

**UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI**

**Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas**

**Mateus Ferreira Mendes**

**EFEITOS DO ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*) NO BALANÇO ENERGÉTICO E  
EM BIOMARCADORES IMUNOMETABÓLICOS DE CAMUNDONGOS  
ALIMENTADOS COM DIETAS BALANCEADA E HIPERLIPÍDICA**

**Diamantina**

**2019**

**Mateus Ferreira Mendes**

**EFEITOS DO ÓLEO DE PEQUI (*Caryocar brasiliense*) NO BALANÇO  
ENERGÉTICO E EM BIOMARCADORES IMUNOMETABÓLICOS DE  
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETAS BALANCEADA E HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas/UFVJM da Sociedade Brasileira de Fisiologia, nível mestrado, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elizabethe Adriana Esteves

Diamantina

2019

Elaborado com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

1                   Mendes, Mateus Ferreira  
                    Efeitos do óleo de pequi (*Caryocar Brasiliense*) no balanço  
                    energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos  
                    alimentados com dietas balanceada e hiperlipídica /Mateus Ferreira  
                    Mendes, 2019.  
                    81 p. : il

Orientadora: Elizabethe Adriana Esteves

Dissertação (Mestrado – Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Fisiológicas) - Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e  
Mucuri, Diamantina, 2019.

**CDD**

Ficha Catalográfica – Serviço de Bibliotecas/UFVJM  
Bibliotecária Nádia Santos Barbosa, CRB6 – 3468.

**Efeitos do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dietas balanceada e hiperlipídica**

Dissertação apresentada ao  
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE  
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS, nível MESTRADO  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de MESTRE EM  
CIÊNCIAS FISIOLÓGICAS

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elizabethe  
Adriana Esteves

Data da aprovação : 05/04/2019

  
Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> ELIZABETHE ADRIANA ESTEVES - UFVJM

  
Prof. Dr. MARCO FABRICIO DIAS PEIXOTO - UFVJM

  
Prof. Dr. HARRIMAN ALEY MORAIS - UFVJM

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, por tudo. Gostaria de agradecer a minha família, principalmente aos meus pais que tornaram essa caminhada possível, e ao meu irmão que sempre esteve presente.

Agradeço de coração a minha orientadora Elizabethe Adriana Esteves que sempre esteve ao lado de seus alunos, estimulando o pensamento e provendo crescimento intelectual e científico; sem ela esse trabalho jamais seria possível. Uma verdadeira mãezona, agradeço pelo seu tempo e dedicação, não só pela relação de mestre e aluno, e sim por sua amizade e compreensão, estando sempre ao lado de todos nós do LABMET, nos momentos alegres e tristes.... Resumindo, muito obrigado Bethe!

Agradeço também a toda equipe do nosso laboratório (LABMET) que a cada dia cresce mais, agradeço a todos que de alguma forma estiveram envolvidos nesse trabalho, mas uma aluna em especial é merecedora de todos os louros, um obrigado especial a Laune (Lau) por ter tanta paciência e dedicação, nos passando o máximo possível de conhecimento, mais uma vez, esse trabalho também não se realizaria sem sua colaboração.

Agradeço à Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), pela minha graduação em Nutrição e pelo mestrado em Ciências Fisiológicas. A todos os professores do Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, em especial aos responsáveis pelos laboratórios de Ensaio Biológicos – LEB, Biologia do Exercício – BIOEx e Imunologia – LabImuno, por viabilizarem e auxiliarem na condução de toda a pesquisa. À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – (FAPEMIG) (APQ 00396-14), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – (CAPES), por todo auxílio financeiro. À FAPEMIG, pela bolsa de estudos.

Finalizo dizendo que não sou o melhor para descrever o quão estou agradecido, mas saibam que tenho plena convicção da colaboração de todos, sendo assim, meu sincero obrigado!

## RESUMO

A obesidade é o resultado do excessivo consumo energético em relação ao gasto. No contexto do macronutrientes, o gasto energético pode ser influenciado pela ingestão lipídica, e a composição em ácidos graxos dietéticos poderá exercer impactos diferenciais, sendo que os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) vêm sendo apontados como mais sacietógenos e termogênicos que os saturados (SFA) ou poliinsaturados (PUFA). Em consequência, os MUFA podem contribuir para reduzir os impactos imunometabólicos da obesidade. O óleo de pequi é rico em MUFA e antioxidantes, apresenta potencial funcional na redução do risco de doenças cardiometabólicas, mas ainda não foi estudado no contexto do balanço energético. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos da ingestão do óleo de pequi em indicadores do balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dietas balanceada e hiperlipídica. Para tal, 36 camundongos da linhagem *Swiss*, machos e com 15 semanas de idade foram distribuídos em quatro grupos experimentais (n=9) sendo: C, que recebeu dieta controle (balanceada), CP que recebeu dieta controle 1% das calorias lipídicas substituídas por óleo de pequi; HL que recebeu dieta hiperlipídica (60% kcal de lipídeos) e HLP, que recebeu dieta HL com 1% das calorias lipídicas substituídas por óleo de pequi. Todos os animais foram submetidos ao final, à análise do consumo de oxigênio e produção de dióxido de carbono por calorimetria indireta e ao teste de sequência comportamental de saciedade (SCS). Foram avaliados indicadores da ingestão alimentar, antropométricos e da adiposidade visceral, imunometabólicos e indicadores do comportamento alimentar. No contexto de dieta balanceada, não houve diferenças para a maioria dos indicadores e biomarcadores avaliados, à exceção das concentrações séricas de adiponectina que foram menores e as de IL12p70 que foram maiores para o grupo CP em relação ao C. ( $p<0,05$ ). No teste de SCS, a frequência da alimentação e o tempo de repouso foram maiores e o tempo de atividade, menores para o grupo CP ( $p<0,05$ ). No contexto da dieta hiperlipídica, observamos um maior IAd do grupo HL, seguido pelo HLP e por último o C ( $P<0,05$ ). No teste de SCS, a ingestão alimentar e calórica do grupo HLP foi menor do que a dos grupos HL e C ( $p<0,05$ ). O grupo HLP apresentou maior tempo de atividade em relação ao grupo HL ( $p<0,05$ ). O tempo de repouso dos animais HLP foi menor do que o do grupo HL ( $p<0,05$ ). As concentrações séricas de proteína C reativa (PCR), de IL12p70 e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) foram maiores para o grupo HL, seguidas pelo HLP e pelo C ( $p<0,05$ ). Assim, no contexto de dieta balanceada, o óleo de pequi não alterou respostas em indicadores da adiposidade, da ingestão alimentar e da termogênese, mas os animais tenderam a apresentar maior tempo de comportamento ingestivo e tiveram pequenas alterações em biomarcadores pró-inflamatórios. Na dieta hiperlipídica, o óleo de pequi não afetou a termogênese, mas promoveu menor acúmulo de gordura visceral com melhorias no perfil pró-inflamatório, o que pode ter contribuído para o comportamento mais ativo desses animais e para a tendência de menor ingestão alimentar.

**Palavras-chave:** Obesidade. Óleo de pequi. Termogênese. Comportamento alimentar. Imunometabolismo.

## ABSTRACT

Obesity results from higher energy intake than expenditure. Regarding dietary macronutrients, energy intake and expenditure can be influenced by lipid intake, being that, fatty acid composition may exert differential impacts, and monounsaturated fatty acids (MUFA) have been reported as more satietyogenic and thermogenic than saturated fatty acids (SFA) or polyunsaturated fatty acids (PUFA). As a result, MUFA may contribute to reducing the immunometric metabolic impacts of obesity. Pequi oil is high in monounsaturated fatty acids and antioxidants, shows a functional potential in reducing cardiometabolic disease risk, but has not been studied in the context of energy balance. Thus, the aim of this study was to evaluate the effects of pequi oil intake on energy balance and immunometabolic biomarkers of mice fed standard and high fat diets. Firstly, 36 male and 15 week old Swiss mice were assigned in four treatments ( $n = 9$ ): C, fed a control (standard) diet; CP fed C diet with 1% of lipid energy being replaced by pequi oil; HF, fed a high fat diet (60% of lipid energy); HFP, fed HF diet with 1% of lipid energy being replaced by pequi oil. Oxygen consumption and carbon dioxide production were analysed by indirect calorimetry and the satiety behavior sequence test (SBS) was performed in all experimental animals at the end. Food intake, anthropometric and visceral adiposity, immunometabolic biomarkers and thermogenic and food behavior indicators were evaluated. In the context of a balanced diet, there were no differences for almost all indicators and biomarkers evaluated, except for serum adiponectin that was lower and for serum IL12p70 that was higher for CP group compared to C. ( $p < 0.05$ ). In the SBS, feeding frequency and rest time were higher and activity time was lower for CP group ( $p < 0.05$ ). In the context of a high fat diet, we observed a higher IAd for HF group, followed by HFP and lastly C ( $p < 0.05$ ). In the SBS, HFP food and caloric intake were lower than HF and C groups ( $p < 0.05$ ). The HFP group showed a higher activity time compared to HF group ( $p < 0.05$ ). The resting time from HFP animals was lower than that from HF group ( $p < 0.05$ ). Serum C-reactive protein (CRP), IL12p70 and interferon gamma (IFN- $\gamma$ ) concentrations were higher for the HF group, followed by HFP and C ( $p < 0.05$ ). Thus, in the context of a standard diet, pequi oil did not alter responses in adiposity, food intake and thermogenesis indicators. Otherwise, it may have induced a longer ingestive behavior and small changes in pro-inflammatory biomarkers. In the high fat diet, pequi oil did not affect thermogenesis, but it induced a lower visceral fat accumulation with improvements in the pro-inflammatory profile, which may have contributed to the more active behavior of those animals and to the lower food intake trend.

**Keywords:** Obesity. *Pequi* oil. Thermogenesis. Food behavior. Immunometabolism.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Obesidade.....</b>	<b>11</b>
<b>2.2 Balanço energético e composição em macronutrientes dietéticos: papel na gênese da obesidade.....</b>	<b>12</b>
<b>2.3 Repercussões imunometabólicas da expansão patológica dos adipócitos na obesidade.....</b>	<b>17</b>
<i>2.3.1 Secreções do tecido adiposo obeso.....</i>	<i>18</i>
<b>2.4. Óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>): composição química e potencial funcional.....</b>	<b>21</b>
<b>3 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE.....</b>	<b>25</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>26</b>
<b>4.1 Objetivo geral.....</b>	<b>26</b>
<b>4.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>26</b>
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>27</b>
<b>5.1. Ensaio biológico.....</b>	<b>27</b>
<i>5.1.1. Animais e condições experimentais.....</i>	<i>27</i>
<i>5.1.2 Dietas experimentais.....</i>	<i>30</i>
<i>5.1.3. Desenho do experimento.....</i>	<i>31</i>
<b>5.2. Procedimentos de análises.....</b>	<b>32</b>
<i>5.2.1. Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade.....</i>	<i>32</i>
<i>5.2.2. Indicadores da termogênese.....</i>	<i>33</i>
<i>5.2.3. Indicadores do comportamento alimentar.....</i>	<i>34</i>
<i>5.2.4 Biomarcadores imunometabólicos.....</i>	<i>35</i>
<i>5.2.4.1 Glicemia capilar.....</i>	<i>35</i>
<i>5.2.4.2 Concentrações séricas de adiponectina, proteína C reativa (PCR) e citocinas pró-inflamatórias.....</i>	<i>35</i>
<b>5.3. Análises estatísticas.....</b>	<b>36</b>



<b>6 RESULTADOS.....</b>	<b>37</b>
<b>6.1. Efeitos da ingestão do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dieta balanceada.....</b>	<b>37</b>
6.1.1. <i>Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade.....</i>	37
6.1.2. <i>Indicadores da termogênese.....</i>	39
6.1.3. <i>Indicadores do comportamento alimentar.....</i>	40
6.1.4. <i>Biomarcadores imunometabólicos.....</i>	45
<b>6.2. Efeitos da ingestão do óleo de pequi (<i>Caryocar brasiliense</i>) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.....</b>	<b>46</b>
6.2.1. <i>Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade.....</i>	46
6.2.2. <i>Indicadores da termogênese.....</i>	50
6.2.3. <i>Indicadores do comportamento alimentar.....</i>	51
6.2.4. <i>Biomarcadores imunometabólicos.....</i>	56
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
<b>7 RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS E CONCLUSÕES.....</b>	<b>66</b>
<b>8 REFERÊNCIAS.....</b>	<b>68</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Evidências epidemiológicas mundiais sobre o aumento da prevalência da obesidade e de suas patologias associadas têm conduzido, nas últimas décadas, a um incremento no número de pesquisas sobre o controle e prevenção desta enfermidade, com enfoque em aspectos do balanço energético (ingestão energética = gasto energético), tendo em vista que a obesidade é, em primeira instância, proveniente do seu rompimento (FIELD, 2014).

Assim, recentemente, investigações tem se voltado não somente para o papel do excesso de calorias dietéticas em relação ao gasto, mas também do tipo e qualidade dos macronutrientes presentes em desequilíbrio nessas dietas, no consequente desencadeamento e manutenção da obesidade (BELLISSIMO e AKHAVAN, 2015; KLESS et al., 2017; SIHAG e JONES, 2018; IGARASHI et al., 2019).

No contexto do balanço energético, a composição em macronutrientes da dieta pode afetar tanto a motivação para comer (apetite/fome) quanto a motivação para abster-se de alimentação (saciação/saciedade). Por outro lado, dos componentes do gasto energético, a termogênese induzida pela dieta (TID) é o fator mais passível de sofrer influências da composição das dietas, afetando assim o gasto energético diário (STEPHEN et al., 2013; SAKAMOTO et al., 2014).

Dentre os macronutrientes, os lipídeos são alvo de investigações porque seu papel no balanço energético ainda é controverso. Tem sido apontado que seus possíveis efeitos podem variar conforme o comprimento da cadeia carbônica dos seus ácidos graxos (BELLISSIMO e AKHAVAN, 2015), a sua capacidade oxidativa (SCHARRER e LANGHNS, 1986) seu grau de saturação (FRIEDMAN et al., 1998), seus metabólitos derivados sintetizados endogenamente (LALEH et al., 2019), dentre outros. Neste sentido, os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) tem recebido destaque por seu potencial termogênico e sacietógeno (BROWN et al., 2017; LALEH et al., 2019).

Além disso, no contexto do desenvolvimento da obesidade, tem sido demonstrado que os diferentes ácidos graxos dietéticos apresentam funções distintas em relação a contribuir ou retardar mecanismos celulares e moleculares realcioandos à adiposidade e à inflamação crônica associada, de tal modo que os ácidos graxos saturados (SFA) têm perfil mais inflamatório e lipogênico do que os ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) e que os MUFA apresentam efeitos inversos aos SFA (ROCHA, BRESSAN e HERMSDORFF, 2017).

Outros componentes dietéticos que têm sido alvo de investigações relacionadas à profilaxia ou ao controle da obesidade são inúmeros compostos antioxidantes, geralmente

ingeridos em maior abundância nas dietas ricas em alimentos de origem vegetal (IGLESIA et al., 2016). Dentre estes compostos, destacam-se os carotenoides. Recentemente, tem sido apontado que alguns carotenoides, tais como o  $\beta$ -caroteno, a criptoxantina, a astaxantina e a fucoxantina, além de derivados retinoides, podem desempenhar um papel regulador na biologia do tecido adiposo e no acúmulo de gordura corporal, com implicações na etiologia e controle da obesidade e doenças metabólicas associadas (BONET et al., 2015, 2016; JIN et al., 2018).

No entanto, é importante ressaltar que, apesar das inúmeras evidências de efeitos termogênicos e sacietógenos de MUFA e efeitos antioxidantes de diversos carotenoides, investigações centradas em efeitos advindos da ingestão de alimento com altas proporções desses compostos são escassas na literatura.

Neste contexto, insere-se o óleo de pequi. Este óleo é rico em MUFA, especialmente no ácido oleico (55%) (TEIXEIRA et al., 2013), o qual tem sido apontado como benéfico na redução do risco de doenças cardiometabólicas (GILLINGHAM; HARRIS-JANZ; JONES et al., 2011). Eles representam a maior parte da composição dos ácidos do óleo, sendo, portanto, determinantes da sua qualidade. Ainda, este óleo também é rico em diversos carotenoides, que são compostos antioxidantes relacionados à redução do risco de muitas doenças cardiometabólicas (BONET et al., 2015).

Evidências científicas nos últimos anos têm mostrado vários efeitos biológicos do óleo de pequi demonstrando relevância em aplicações nutricionais. Já foram demonstrados efeitos cicatrizantes (BEZERRA; BARROS; COELHO, 2015), quimiopreventivos (COLOMBO et al., 2015; PALMEIRA et al., 2015), anti-mutagênicos, antioxidantes (MIRANDA-VILELA et al., 2009; MIRANDA-VILELA et al., 2011), antimicrobiano (BAPTISTA et al., 2018), anti-inflamatórios, anti-hipertensivos e anticâncer (MIRANDA-VILELA et al., 2009; MIRANDA-VILELA et al., 2014; MIRANDA-VILELA et al., 2013), do óleo de pequi, especialmente em modelos *in vitro* e em animais. No entanto, mesmo em modelos animais, os resultados não foram obtidos, em sua maioria, da ingestão do alimento.

Nosso grupo vem investigando efeitos da ingestão do óleo de pequi em modelos animais. Os resultados obtidos até o momento, apontam benefícios da sua ingestão sobre o perfil de lipídeos séricos (TEIXEIRA et al., 2013), sobre a adiposidade visceral e estrutura intestinal (MORENO et al., 2016) e sobre a função cardíaca (OLIVEIRA et al., 2017) de ratos saudáveis. Em modelo de obesidade induzida por dieta de padrão ocidental (rica em banha de porco e açúcar), a ingestão do óleo de pequi reduziu a adiposidade visceral e a deposição de triglicerídeos hepáticos e melhorou função cardíaca de ratos, além de melhorar o estado redox celular (CÉSAR et al., 2017).

Assim, podemos inferir que o óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) apresenta também potencial funcional no balanço energético e na adiposidade e poderia vir a ser incluído em estratégias de combate à obesidade. No entanto, não foi investigado neste contexto, o que constituiu a mola propulsora de estudo.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Obesidade

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal principalmente na região visceral, que acarreta prejuízos à saúde dos indivíduos, como dificuldades respiratórias, problemas dermatológicos e distúrbios do aparelho locomotor, além de favorecer o surgimento de enfermidades potencialmente letais como dislipidemias, doenças cardiovasculares, resistência à insulina, diabetes do tipo II e alguns tipos de câncer (MONTEIRO e CONDE, 1999). É uma enfermidade de origem multifatorial, afetando milhões de pessoas ao redor do mundo, por isso é considerada um importante problema de saúde pública (WHO, 2016).

Dados da Organização Mundial da Saúde apontaram que em 2016, 39% da população adulta apresentava-se com excesso de peso, e 18% dos adolescentes e crianças já estavam com sobrepeso ou obesos. A projeção desta organização é que, em 2025, aproximadamente 2,3 bilhões de adultos estejam com sobrepeso; e mais de 700 milhões, obesos. (WHO, 2016). Essa tendência a ascensão no número de pessoas com sobrepeso e obesidade mundial, poderá acarretar um aumento expressivo nos casos de doenças relacionadas como diabetes do tipo 2 e câncer (REZENDE et al., 2018).

No Brasil, dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico – VIGITEL, mostraram que a prevalência da obesidade nos adultos aumentou 60,2% em 10 anos, e passou de 11,8% em 2006 para 18,9% em 2016, mostrando aumento semelhante em ambos os gêneros (BRASIL, 2017). As consequências da obesidade são muitas, tais como o aumento do risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, esteatose hepática não alcoólica, diabetes do tipo 2, câncer e outras (JUNG et al., 2016).

Qualquer uma dessas condições ou o somatório das mesmas resultam em uma redução da expectativa de vida e acarretam um impacto negativo na economia (CAPUTO et al. 2017). São escassos dados sobre impactos econômicos da obesidade no Brasil. Dados relatados em 2012 apontavam que os custos totais estimados no Brasil, com todas as morbidades relacionadas ao sobrepeso e à obesidade, chegavam a 2,1 bilhões de dólares no ano, sendo 1,4 bilhões (68,4% dos custos totais) atribuídos a internações e 679 milhões a procedimentos ambulatoriais. Especulou-se que, aproximadamente 10% destes custos eram atribuídos diretamente ao sobrepeso e à obesidade (BAHIA et al., 2012).

Desta forma, o interesse científico nesta patologia é imenso, o que inclui investigações relacionadas as suas características fisiopatológicas e os aspectos que as rodeiam, incluindo a

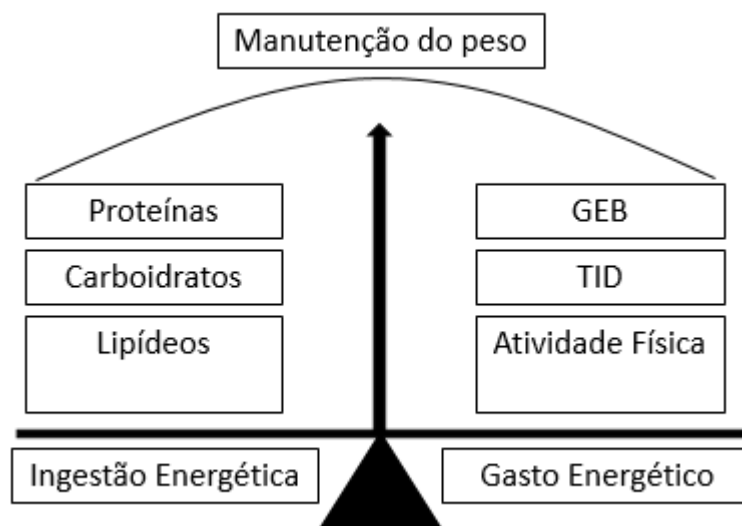
compreensão de influências dietéticas em processos moleculares, celulares e sistêmicos determinantes do seu desenvolvimento e/ou controle.

## 2.2 Balanço energético, composição em macronutrientes e compostos bioativos dietéticos: papel na obesidade.

De maneira geral a obesidade é o resultado do excesso da ingestão alimentar, sendo que a quantidade de alimento necessária para manter o peso corporal estável varia de acordo com o gasto energético. Basicamente, um consumo excessivo de energia em relação ao gasto leva a um balanço energético positivo, que tem como consequência, o aumento de peso, o qual é resultante do acúmulo de triglicerídeos no tecido adiposo, especialmente no tecido adiposo branco (FIELD, 2014). Sendo assim um ponto chave para a manutenção do peso corporal ideal é o balanço entre a ingestão e o gasto energético (Figura 1).

Generalisticamente, em um ambiente obesogênico, onde a ingestão energética é maior do que o gasto, o saldo calórico é convertido e estocado na forma de triglicerídeos no tecido adiposo. O corpo humano apresenta eficiência aproximada de 95% em estocar lipídeos dietéticos como reserva de gordura (FRANCISCHI et al., 2000).

Figura 1 - Esquema ilustrativo do balanço energético.



GEB = Gasto energético basal; TID = Termogênese induzida pela dieta

Assim, as necessidades energéticas de um indivíduo deveriam ser atendidas na extensão do seu gasto energético. Em linhas gerais, o gasto energético pode ser considerado um processo de produção de energia a partir da combustão de substratos (carboidratos, proteínas, lipídeos e

álcool), o qual requer consumo de oxigênio ( $O_2$ ) e resulta em produção de dióxido de carbono ( $CO_2$ ). Parte desta energia é perdida na forma de calor e na urina e o restante é estocado nas moléculas de adenosina trifosfato (ATP) (SCHUTZ, 1995).

O gasto energético total diário (GET) é determinado pela soma dos seus três componentes, a saber: a taxa de metabolismo basal (TMB), o gasto energético advindo da atividade física (AF) e o gasto energético induzido pela dieta, chamado de termogênese induzida pela dieta (TID), ou termogênese pós-prandial (SCHUTZ, 1995).

A TMB representa o mínimo de energia requerida pelo corpo para manutenção das funções vitais. Ela contribui com 60 a 75% do requerimento energético total diário para a maioria dos indivíduos sedentários e aproximadamente 50% para a maioria dos indivíduos fisicamente ativos. A AF representa o efeito térmico de qualquer movimento que exceda a TMB e é o componente mais variável do GET, tanto inter quanto intra-individualmente, podendo corresponder de 10 e 20% do GET (SCHUTZ, 1995).

A TID corresponde de 10 a 15% do GET, quando se trata de uma dieta mista. Ela é composta por dois componentes: um obrigatório, que a energia requerida para digestão, transporte e armazenamento de nutrientes (> para armazenamento) e um componente facultativo que é a produção de calor (HO, 2018).

Apesar de a TID ser o menor componente do GET, tem havido interesse no seu significado metabólico, de modo que possíveis defeitos neste componente, poderia predispor à obesidade (HO, 2018). Já em 1997, De Jong & Bray registraram em sua revisão sistemática, que em 29 dos 49 estudos descritos, a TID foi menor em indivíduos obesos comparativamente a magros (de JONG e BRAY, 1997). Além disso, dentre os componentes do gasto energético, a TID é a mais influenciada pela composição da dieta. (TENTOLOURIS et al., 2008), sendo que a quantidade de calorias do alimento e seu perfil de macronutrientes são os principais fatores determinantes da sua influência (SAKAMOTO et al., 2014).

A quantidade de alimento ingerido é um dos fatores determinantes da TID. Entretanto, a termogênese induzida por cada macronutriente é diferente. Tem sido relatado 0 a 3% da TID é atribuída aos processos relacionados aos lipídeos, 5 a 10% aos carboidratos, 20 a 30% às proteínas (LEJEUNE et al., 2006) 10 a 30% ao álcool (WESTERTERP et al., 1999; WESTERTERP et al., 2008).

Está também relatado na literatura que a TID é maior para proteínas porque a maior ingestão desses nutrientes pode aumentar a síntese proteica e a oxidação de aminoácidos, processos que requerem mais energia. Westerterp (2004) postula que a síntese proteica requer no mínimo quatro moléculas de ATP para cada aminoácido incorporado em uma molécula de

proteína, refletindo um custo de 0,75 kcal/g para cada proteína sintetizada. Além disso, o custo metabólico da síntese da ureia e da gliconeogênese é considerado alto. Sabe-se também que o custo energético varia conforme o perfil aminoacídico da proteína ingerida (WESTERTERP, 2008).

Comparativamente, os carboidratos e lipídeos influenciam menos a TID do que as proteínas. Destes, aparentemente, os lipídeos seriam os macronutrientes que menos elevam a TID. Assim, a ingestão de dietas e, ou, alimentos ricos em lipídeos poderiam facilitar o acúmulo de gordura corporal (HERMSDORFF et al., 2007). No entanto, recentemente, tem sido demonstrado que a composição em ácidos graxos dos lipídeos dietéticos pode exercer impactos diferenciais na TID. Tem sido postulado que a taxa de oxidação de ácidos graxos insaturados é maior que a dos saturados (SFA), sendo as maiores taxas para os ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) (KRISHNAN e COOPER, 2014; JONES et al., 2014).

Evidências indicam um incremento na taxa de oxidação, na TID e, consequentemente, no GET em dietas com altas concentrações de MUFA (KRISHNAN e COOPER, 2014). Por exemplo, em alguns estudos, efeitos termogênicos de diferentes tipos de ácidos graxos foram mais induzidos em dietas ricas em ácidos graxos insaturados, sendo os melhores efeitos atribuídos aos MUFA ( $MUFA \geq PUFA > SFA$ ) (GILLINGHAM; HARRIS-JANZ; JONES, 2011; KRISHNAN, COOPER, 2014). Nimptsch et al. (2010) encontraram uma relação inversa entre a ingestão de ácido oleico e ganho de peso corporal, enquanto que o ácido araquidônico e o ácido linoleico foram linearmente associados com o ganho de peso corporal. Adicionalmente, Poudyal e Brown (2015) postularam que dietas ricas em ácido oleico poderiam promover perda de peso corporal em pacientes diabéticos e não diabéticos. Assim, a combinação correta de macronutrientes seria alternativa para otimizar os efeitos dos alimentos sobre a TID, e consequentemente no GET, contribuindo assim para prevenir o ganho de peso ou auxiliar na perda e manutenção do mesmo.

Conforme descrito anteriormente, a quantidade de alimento ingerido determina a quantidade de energia disponível a ser utilizada e, ou armazenada. Assim, o controle da ingestão alimentar (energética) é também um componente chave nos mecanismos que regulam o peso corporal (HOPKINS e BLUNDELL, 2016).

A ingestão alimentar deveria ser um simples ato de “ligar” e “desligar” durante o tempo em que uma refeição é consumida. Entretanto, os elementos responsáveis pelo seu controle não são simples. A ingestão é condicionada ao comportamento, o qual é determinado por motivações tanto para iniciá-la quanto para terminá-la (BLUNDELL, 2015). As motivações associadas com a ingestão alimentar são determinadas por circuitos neurais, os quais são influenciados por uma



série de sinais centrais e periféricos. As percepções que motivam o comer ou o não comer são a fome e a saciedade, respectivamente. A fome influencia quando e o quanto comer. Durante a ingestão do alimento, a fome diminui gradativamente. A sensação de plenitude ou a saciação se desenvolve enquanto o indivíduo está comendo e eventualmente a alimentação irá cessar, iniciando-se assim, o estado de saciedade. A alimentação não deveria retornar até que a saciedade terminasse e que a fome retornasse (BACKUS e WARA, 2016).

À luz do conhecimento atual, a ingestão alimentar é controlada por um complexo sistema psicobiológico que envolve uma rede de interações entre o comportamento alimentar, a secreção de sinais fisiológicos periféricos e suas interações metabólicas em nível cerebral. Em resumo, eventos neurais desencadeiam e orientam o comportamento (alimentar), mas cada ato envolve uma resposta fisiológica periférica, traduzida em atividade neuroquímica cerebral que representa a força de motivação para comer e a disposição de abster-se da alimentação (ROH e KIM, 2016).

Desta forma, evidências substanciais indicam que o cérebro desempenha um papel central no controle homeostático da regulação da ingestão alimentar e do gasto energético. O cérebro detecta excesso ou déficit de energia porque percebe concentrações de nutrientes e hormônios metabólicos circulantes e recebe essa informação da periferia via sistema nervoso autônomo. Uma rede especializada de neurônios coordena o comportamento de ingestão energética e processo metabólicos que afetam o gasto energético (ROH e KIM, 2016).

O hipotálamo é a região do cérebro que controla a ingestão alimentar e o peso corporal. O núcleo arqueado hipotalâmico (NAH) está idealmente situado perto do terceiro ventrículo e da eminência mediana, que é uma área com barreira hematoencefálica relativamente porosa. Isso proporciona ao NAH o livre acesso aos nutrientes e hormônios circulantes, tornando-o o principal centro de detecção de nutrientes do hipotálamo. Existem duas populações neuronais distintas no NAH: neurônios orexígenos que expressam tanto o neuropeptídeo Y (NPY) como o peptídeo relacionado com agouti (AgRP) e neurônios anorexígenos que expressam a proopiomelanocortina (POMC) e o transcrito relacionado à cocaína e anfetamina (CART). Esses neurônios são considerados de primeira ordem e que respondem a sinais metabólicos periféricos e projetam seus axônios para neurônios de segunda ordem do núcleo paraventricular (PVN), da área perifornical adjacente ao fórnix e ao hipotálamo lateral (LH), e para os neurônios preganglionares autonômicos do tronco cerebral e da medula espinhal.

O NAH é crítico para detectar sinais de adiposidade, como leptina e insulina. Assim, leptina e insulina sinalizam o estado das reservas de energia do corpo para o hipotálamo. Tanto a

leptina como a insulina ativam os neurônios POMC, enquanto inibem os neurônios NPY/AgRP (ELIAS, 1999).

Do ponto de vista da determinação dietética da obesidade, além das prováveis interferências na termogênese, tem sido também postulado que os macronutrientes influenciam diferentemente no controle da ingestão alimentar. Assim, as proteínas dietéticas têm se mostrado mais efetivas em prolongar a saciedade e suprimir a ingestão alimentar do que carboidratos ou lipídeos (HARVEY e MOORE, 2004). Um grande número de ensaios clínicos indica que dietas ricas em proteínas promovem perda de peso e adiposidade porque reduzem a ingestão alimentar, mantendo massa magra e aumentando o gasto energético (WYCHERLEY TP, et al., 2012). O poder sacietógeno das proteínas tem sido atribuído ao seu maior potencial termogênico na dieta (> TID), possivelmente pelo aumento da síntese proteica e do consumo de ATP para a síntese de ligações peptídicas (WESTERTERP, 2008).

Açúcares e amidos influenciam a ingestão alimentar em curto prazo por meio de seus efeitos na glicose e na insulina sanguíneas (STEPHEN et al., 2013). Adicionalmente, os efeitos são dependentes da composição em carboidratos não digeríveis da refeição (fibras), os quais poderiam contribuir para a saciedade promovendo retardo do esvaziamento e aumento da distensão gástricos, secreção de incretinas, produção de ácidos graxos de cadeia curta, dentre outros (NILSSON et al., 2008).

Os lipídeos apresentam um papel controverso. Enquanto são os nutrientes mais densamente energéticos, sua influência na secreção de hormônios intestinais, tais como a colecistoquinina, o peptídeo similar ao glucagon (GLP-1) e o peptídeo inibidor gástrico (GIP), retardam o esvaziamento gástrico e a absorção de nutrientes, o que reduz a ingestão alimentar de curto prazo (BELLISSIMO e AKHAVAN, 2015). Adicionalmente, a presença de ácidos graxos no duodeno ativa interações entre intestino-cérebro-fígado, as quais desempenham papel chave no controle da homeostase da glicose, retardando o retorno da fome e inibindo a ingestão alimentar (WANG et al., 2008). Tem sido apontado que efeitos sacietógenos dos lipídeos são influenciados por diversos fatores, tais como o comprimento da cadeia carbônica do ácido graxo (BELLISSIMO e AKHAVAN, 2015), a sua capacidade oxidativa (SCHARRER e LANGHNS, 1986) e seu grau de saturação (FRIEDMAN et al., 1998). Neste contexto, os MUFA têm mostrado maior poder sacietógeno que os PUFA ou SFA (FRENCH et al., 2000).

Dentre as hipóteses recentes, o papel da maior produção do metabólito oleoiletanolamida (OEA) a partir de ácido oleico advinda da ingestão de dietas ricas neste ácido graxo, vem sendo discutida. A OEA é um membro do grupo de reguladores metabólicos derivados de ácidos graxos que controlam a ingestão alimentar porque influenciam os sistemas

metabólicos e de recompensa. Ela reduz a sensação de apetite, logo reduz a ingestão alimentar. Este achado pode ser considerado novo em humanos e indica que a maior ingestão de óleos ricos em ácido oleico na alimentação poderia fazer parte de estratégias que visam o melhor controle da ingestão alimentar (MENNELLA et al, 2015). Entretanto, investigações sobre efeitos da maior ingestão de MUFA em longo prazo na ingestão alimentar ainda são escassas.

FU et al. (2008) mostraram que o aumento da expressão de precursores da oleoiletanolamida (OEA) no epitélio intestinal de ratos adultos resultou em redução da ingestão alimentar com concomitante elevada concentração intestinal de OEA. Em humanos, Mennella et al (2015) demonstraram que o conteúdo de ácido oleico de uma refeição foi associado com a redução do apetite e a supressão da ingestão energética subsequente. Assim, o ácido oleico é apontado como responsável por efeitos positivos e representa o mais disponível MUFA dietético, sendo o óleo de oliva, sua principal fonte.

É importante também destacar que muitos compostos bioativos da dieta, especialmente aqueles com atividade antioxidante vêm sendo relacionados à obesidade. Dentre eles, destacam-se os carotenoides. Tem surgido uma nova perspectiva de função para os carotenoides e produtos derivados de carotenoides, a qual conecta esses compostos ao controle da biologia dos adipócitos e ao acúmulo de gordura corporal, com implicações no manejo da obesidade, do diabetes do tipo 2 e de doenças cardiovasculares. Estudos com animais e culturas de células indicam que os carotenoides e derivados podem reduzir a adiposidade e impactar aspectos chaves da biologia dos adipócitos, tais como a diferenciação, hipertrofia, capacidade de oxidação de ácidos graxos e termogênese, incluindo transformação de tecido adiposo branco em marrom, e função secretória (revisado por BONET et al., 2015).

## 2.3 Repercussões imunometabólicas da expansão patológica do tecido adiposo na obesidade

O tecido adiposo branco tem sido considerado como um órgão endócrino ativo, desempenhando um papel chave na integração do metabolismo sistêmico (MAKKI; FROGUEL e WOLOWCZUK, 2013). Desta forma, a busca de demonstrações das associações entre os distúrbios provocados pelo acúmulo de gordura nos adipócitos e o desenvolvimento de doenças metabólicas tem sido cada vez mais alvo de pesquisas.

De maneira geral, no desenvolvimento da obesidade, ocorre remodelamento do tecido adiposo com alteração na proporção e no tipo de células presentes na sua porção estromo-vascular. Há infiltração de células imunes, excessiva produção de matriz extracelular (MEC), fibrose, desregulação da produção de adipocinas e desequilíbrio redox (SUGANAMI e OGAWA, 2010).

Ainda não é bem esclarecido qual ou quais mecanismos iniciam o acúmulo patológico de gordura no TAB. No entanto, sabe-se que o aumento excessivo no tamanho do adipócito devido à deposição de triacilgliceróis e, ou, no seu número devido à diferenciação (hipertrofia e hiperplasia) não promove neovascularização, o que reduz a captação de oxigênio pelo tecido, surgindo assim, um estado de micro-hipóxia (TRAYHURN, 2014). A micro-hipóxia, portanto, parece ser um dos primeiros determinantes da disfunção do tecido adiposo branco (TAB). (SUN et al., 2013).

A combinação de micro-hipóxia e excesso de nutriente induz a um estresse do retículo endoplasmático, o que pode levar a morte do adipócito ou induzir respostas inflamatórias (ARKAN et al., 2005). Dentre estas, destacam-se o aumento da produção e liberação de adipocinas pelo adipócito, tais como a leptina e resistina, redução de outras como a adiponectina e a ativação de várias vias de sinalização pró-inflamatórias que resultam também na produção de vários biomarcadores da inflamação (interleucina-6 - IL-6 - e fator de necrose tumoral- $\alpha$  - TNF- $\alpha$ , dentre outros), tanto pelos adipócitos quanto por células imunes residentes (FUENTES et al., 2013). Concomitantemente, há uma redução na secreção de fatores anti-inflamatórios, como a interleucina-10 (IL-10) (OKAMOTO et al., 2008).

Além disso, há um maior recrutamento de macrófagos derivados da medula óssea, e mudança do estado de ativação destas células do fenótipo M2 para M1. Os macrófagos M1 apresentam perfil secretório pró-inflamatório e produzem citocinas como a interleucina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), a IL-6 e o TNF- $\alpha$ ; já as células de fenótipo M2, apresentam um perfil de secreção menos inflamatório, expressam arginase e produzem alta concentração de interleucinas anti-inflamatórias com a IL-10 e a interleucina-1ra (IL-1ra) (MAKKI, FROGUEL e WOLOWCZUK,

2013). Ainda, as citocinas secretadas pelos macrófagos recrutados também ativam vias intracelulares pró-inflamatórias em células vizinhas e em outros tecidos. Adicionalmente, também promovem recrutamento, infiltração e polarização adicionais de macrófagos M1 para o tecido adiposo, o que contribui para a piora do estado inflamatório (MORINO, PETERSEN e SHULMAN, 2006). Além disso, ocorre infiltração de outras células imunes como linfócitos, neutrófilos e mastócitos, agravando o processo inflamatório (SUGANAMI e OGAWA, 2010).

Este processo pró-inflamatório inicia-se localmente e conforme a piora do estado metabólico do adipócito, torna-se sistêmico, o que é denominado inflamação crônica de baixo grau (ICBG). A ICBG tem recebido expressiva atenção como provável alvo terapêutico, devido ao seu papel na patogênese das inúmeras desordens associadas à obesidade, tais como a resistência à insulina, o diabetes do tipo 2, a doença hepática não alcoólica, doenças cardiovasculares, dentre outras (WU et al., 2010).

### *2.3.1 Secreções do tecido adiposo obeso*

Conforme descrito anteriormente, a expansão disfuncional do TAB culmina com secreção desregulada de alguns fatores, sendo esses produzidos pelos adipócitos e/ou células imunes residentes e infiltradas. Ocorre um aumento na secreção de fatores pró-inflamatórios, como por exemplo a leptina e citocinas pró-inflamatórias IL-6, interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), interleucina-12 (IL12p70), TNF- $\alpha$  e proteína quimioatraente de monócitos (MCP-1), com concomitante redução de alguns fatores antiinflamatórios, tais como a adiponectina e a IL10 (SUN et al., 2011).

A leptina, uma das principais adipocinas, é uma proteína produzida principalmente pelos adipócitos, sendo que sua concentração circulante correlaciona-se positivamente com a massa de tecido adiposo, conteúdo de triglicerídeos e condição nutricional (LASTRA et al., 2006). Em nível central, o controle do apetite é a função básica da leptina (LI et al., 2011). Em nível periférico, esta inibe a lipogênese e estimula a lipólise, reduzindo concentrações intracelulares de lipídeos no músculo esquelético, fígado e células beta-pancreáticas. (FONSECA-ALANIZ et al., 2007). Elevados níveis teciduais e séricos de leptina estão associados com respostas pró-inflamatórias. A leptina é capaz de estimular a proliferação de linfócitos T, induzir a expressão de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos (IL-6 e TNF- $\alpha$ ) e monócitos e agir diretamente nos hepatócitos para promover a expressão da proteína C reativa (LOFFREDA; YANG; LIN et al., 1998).

A adiponectina é sintetizada principalmente pelos adipócitos, mas também é expressa em células musculares esqueléticas, cardiomiócitos e células endoteliais (DELAIGLE et al., 2004; PINEIRO et al., 2005; WOLF et al., 2006). Esta adipocina circula no soro em concentrações

consideradas altas (5 a 10 mg/mL) comparadas com as da leptina (poucos ng/mL) e apresenta uma ampla faixa de efeitos biológicos.

Em condições fisiológicas, a adiponectina é uma adipocina que apresenta um importante papel anti-inflamatório, desta maneira, essa vem sendo alvo de um grande número de pesquisas. Esta adipocina inibe a expressão de moléculas de adesão induzidas pelo TNF- $\alpha$  (molécula de adesão celular vascular – VCAM e da molécula de adesão endotelial - ICAM-1), induz a produção de IL-10 e do agonista do receptor de interleucina 1 (IL-1RA) em monócitos, macrófagos e células dendríticas, e ainda reduz a produção de interferon- $\gamma$  em macrófagos (YOKOTA et al., 2000; WOLF et al., 2004; YAMAGUCHI et al., 2005).

Durante a resposta inflamatória, o TNF-  $\alpha$  desempenha um papel central no início e na sua regulação. Na obesidade, a maior parte da sua produção é feita pelos macrófagos, todavia, adipócitos maduros contribuem de forma considerável para sua secreção (RUBIO-PEREZ; MIGUEL; MORILLAS-RUIZ, 2012). Ela é uma citocina pró-inflamatória clássica e sua atuação inibindo a sinalização da insulina é classicamente estudada (STEPHENS, LEE, PILCH, 1997). Também foi demonstrado que na obesidade, elevados níveis de TNF- $\alpha$  aumentam a atividade da lipase hormônio sensível induzindo à lipólise, em contrapartida, reduz a expressão e atividade da lipase lipoproteica, acarretando uma maior esterificação de ácidos graxos e armazenamento de triglicerídeos no TAB (IMAI et al, 2004; CAWTHORN e SETHI 2008). Desta forma, o TNF- $\alpha$  pode promover a manutenção da alta concentração plasmática de AGL, sendo este um fator que contribui para o desenvolvimento de resistência periférica à insulina (ALIPOURFARD, DATUKISHVILI E MIKELADZE, 2019)

A IL-6 é a secretada, por várias células, tais como osteoblastos, miócitos, queratinócitos, células  $\beta$  pancreáticas, células endoteliais, monócitos, macrófagos, adipócitos, dentre outras (CAREY et al., 2004). Sua concentração circulante é normalmente baixa, porém se eleva em algumas condições inflamatórias, como na obesidade onde está também é apontada como pró-inflamatória (CHEN et al., 2017). Mitrou et al. (2011) observaram que o TAB disfuncional libera IL-6 e que esta pode atuar mediando a resistência a insulina no musculo esquelético.

A MCP-1 ou CCL-2 (ligante de quimocina 2) também é uma proteína que está associada à inflamação da obesidade. Ela é mais expressa na porção estomo-vascular do tecido adiposo, principalmente quando os adipócitos são maiores e menos vascularizados (SKURK et al., 2007). A MCP-1 estimula o recrutamento de macrófagos para o tecido adiposo (CHYLIKOVA et al., 2017). Alguns estudos já demonstraram que em camundongos com obesidade induzida pela dieta, a deleção desta quimocina ou do seu receptor (CCR2) levou a diminuição do conteúdo de macrófagos pró-inflamatórios e na redução da inflamação do tecido adiposo (OH et al., 2012). Já

em um estudo realizado por Kanda et al. (2006) foi demonstrado que o aumento da expressão de MCP-1 no TAB aumentou o número de macrófagos neste sítio. Assim, o eixo da CCL-2 e seu receptor (CCR-2) é tido como um dos principais recrutadores de células inflamatórias para o tecido adiposo de camundongos obesos.

O IFN- $\gamma$  é uma citocina indutora da produção de óxido nítrico (NO) e estimuladora da expressão e atividade do TNF- $\alpha$ , sendo considerado então, uma citocina pró-inflamatória. Ele apresenta, além de atividade antiviral, capacidade de ativar a via que afeta as células T citotóxicas (RUBIO-PEREZ; MIGUEL; MORILLAS-RUIZ, 2012). Células NK e T presentes no tecido adiposo atuam na regulação positiva da expressão e ativação do IFN- $\gamma$ . Sabe-se ainda que o IFN- $\gamma$  tem a capacidade de promover a alteração de fenótipo dos macrófagos, de M2 para M1. O IFN- $\gamma$  também regula a expressão de IL-10; de tal forma que esta citocina tem forte influência sobre a inflamação do tecido adiposo (O'ROURKE et al, 2009).

A citocina IL12p70 é considerada o principal fator promotor de um perfil secretório de citocinas pró-inflamatórias (Th1) contra o perfil anti-inflamatório (Th2), sendo esta produzida por células imunes ativas. Primariamente, esta citocina é produzida por macrófagos e células dendríticas e estimula a sua própria secreção pelas células T (LOUER et al., 2012). No estudo realizado por Strissel et al. (2010) ocorreu um incremento na expressão de IL12p70 em macrófagos do tecido adiposo de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (60% das calorias) em relação a camundongos alimentados com dieta hipolipídica.

## 2.4. Óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*): composição química e potencial funcional

O pequi é o fruto do pequizeiro (*Caryocar brasiliense*), uma árvore nativa dos cerrados brasileiros. O pequizeiro encontra-se distribuído em vários estados do país, como Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Pará, Piauí e Tocantins (ALMEIDA et al., 1998; LIMA et al., 2007)

O pequi já vem sendo utilizado em várias aplicações terapêuticas e industriais além do seu tradicional uso culinário. Assim, desperta o interesse econômico e científico. Para a população do Cerrado brasileiro, o pequi se tornou uma espécie bastante promissora, podendo por exemplo, ser empregado em programas de renda familiar, graças as suas várias formas de utilização (POZO, 1997).

O pequi é comumente utilizado na medicina popular, para tratar doenças respiratórias como, asma, gripes, bronquite e resfriados. As folhas e flores também são utilizadas como afrodisíaco e para o tratamento de doenças hepáticas e a sua casca, como diurético (OLIVEIRA et al., 2012). O óleo é utilizado de maneira tópica em feridas, como cicatrizante. A indústria de cosméticos utiliza o óleo da amêndoa graças ao seu perfume, e também o óleo da polpa, graças ao seu conteúdo de antioxidantes e atividade antimicrobiana (AMARAL et al., 2014).

O óleo do pequi representa de 30 a 50% do peso da polpa, e é considerado rico em MUFA, principalmente o oleico, seguido pelo palmítico, representando aproximadamente 55% e 34%, respectivamente (ROLL et al., 2018). Assim, eles representam a maior quantidade da composição dos ácidos graxos do óleo e determinam portanto, sua qualidade e potencial funcional. Adicionalmente, vários autores já demonstraram que o óleo e a polpa do pequi também são ricos em compostos antioxidantes, com destaque para os diversos carotenoides tais como violaxantina, luteína, zeaxantina,  $\beta$ -cryptoxantina, neoxantina,  $\beta$ -caroteno (AZEVEDO-MELEIRO e RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; TEIXEIRA et al., 2013; TORRES et al., 2018).

Conforme descrito anteriormente, tanto os MUFA quanto os carotenoides tem sido associados à proteção contra processos celulares e sistêmicos subjacentes ao desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis, tais como a obesidade (GILLINGHAM; HARRIS-JANZ; JONES, 2011; KRISHNAN, COOPER, 2014; FRENCH et al., 2000; FU et al., 2008; MENNELLA et al., 2015; BONET et al., 2015)

Assim, devido a sua composição química peculiar, com destaque para seu teor de MUFA e carotenoides, o óleo de pequi apresenta um grande potencial para alimento funcional o que vem despertando o interesse científico neste alimento. Nas últimas décadas, houve um



crescimento substancial nas investigações a respeito de propriedades funcionais e biológicas deste óleo.

No final da primeira década dos anos 2000, Roesler, Lorencini e Pastore. (2010) demonstraram *in vitro* que extratos etanólicos da polpa de pequi (óleo), inibiram a peroxidação de lipídeos de membrana de forma dose dependente, efeito este, atribuído aos antioxidantes presentes no extrato.

No trabalho desenvolvido por De Oliveira et al (2007), foi mostrado que concentrações crescentes (6%, 12%, 25%, 50% e 100%) de óleo da semente de *Caryocar coriaceum*, espécie pertencente à mesma família do pequi, apresentou atividade anti-inflamatória tópica e acelerou o reparo cutâneo em modelo de edema de ouvido em ratos. Foi demonstrada redução na inflamação de maneira dose-dependente, sendo que a inibição do edema ocorreu na magnitude de aproximadamente 38% em 15 minutos, na concentração máxima (100% - 50mL) *in natura*, isso quando comparado ao controle positivo. É importante ressaltar que a composição deste óleo é muito similar a do óleo de pequi da espécie *Caryocar brasiliense*.

Aguilar et al. (2012) demonstraram efeitos controversos do óleo de pequi na aterogênese de ratos. Enquanto uma dieta com elevado teor de óleo de pequi levou a redução da velocidade da aterogênese em seus estágios iniciais (atribuído principalmente a sua capacidade antioxidante), concomitantemente acarretou em um aumento das concentrações séricas de LDL-colesterol; isso favoreceu o aumento das placas ateroscleróticas em estágios mais avançados, sendo este efeito atribuído ao alto conteúdo de ácido palmítico do óleo.

Miranda-Vilela et al (2014) demonstraram que a ação antioxidante do óleo de pequi sobre danos induzidos por doxorubicina em células normais de camundongos com tumor de Ehrlich, foi ainda maior do que das vitaminas C e E. Em consonância, Palmeira et al. (2015) mostraram que camundongos que receberam doses de 100mg/kg ou 400mg/kg durante 160 dias, obtiveram uma proteção hepática contra lesões pré-neoplásicas e de adenoma induzidos por dietilnitrosamina.

Bezerra, Barros e Coelho (2015) demonstraram o papel cicatrizante do óleo de pequi. Neste estudo, uma dose tópica de 1mL de óleo foi aplicada sobre uma ferida circular, produzida cirurgicamente em ratos *Wistar*, induzindo o reparo das lesões cutâneas. Esses autores demonstraram que o óleo promoveu uma maior velocidade do reparo tecidual, aumentou o número de fibroblastos e reduziu o número de células inflamatórias.

Traesel et al. (2017) realizaram um estudo para avaliar possíveis efeitos embriotóxicos e teratogênicos do óleo de pequi em camundongos fêmeas durante a gestação. Para tal, camundongos fêmeas e grávidas foram alimentadas durante a gestação com dietas-padrão

suplementadas com 250, 500 e 1000 mg de óleo de pequi por quilo de dieta. Não houve efeitos negativos advindos da ingestão de nenhuma das dietas testadas, o que indicou que o consumo do óleo de pequi durante a gestação foi seguro.

Vale et al. (2018) investigaram os efeitos da ingestão do do óleo de pequi na proteção de células do fígado de ratos adultos, contra lesões resultantes do estresse oxidativo provenientes do exercício físico. Assim, após um período de 5 semanas de treinamento e ingestão de 400mg de óleo de pequi por dia, pôde-se verificar que os animais exercitados e suplementados com o óleo apresentaram redução considerável em lesões hepáticas em relação aos animais que não receberam o óleo. Esses efeitos foram atribuídos a atividade antioxidante do óleo.

Estudos realizados com humanos são mais escassos. No trabalho realizado por Miranda-Vilela *et al.* (2009), mulheres corredoras foram suplementadas com cápsulas de 400mg de óleo de pequi por 14 dias, previamente à competição. Após a competição, houve redução da peroxidação lipídica e do dano oxidativo ao DNA. Observou-se ainda a redução da concentração de marcadores inflamatórios plasmáticos e da pressão arterial. Posteriormente, Miranda-Vilela et al. (2011) descreveram que polimorfismos genéticos influenciaram as respostas das corredoras à ingestão do óleo de pequi.

Em linhas gerais, nosso laboratório tem investigado propriedades biológicas do óleo e da polpa do pequi em modelos animais. Nossos resultados têm demonstrado alguns efeitos positivos. Inicialmente, observamos por meio de um ensaio biológico de 28 dias, que a ingestão da polpa de pequi, de modo a ofertar 600 mg/dia de óleo reduziu a deposição hepática de lipídeos e elevou as concentrações séricas de HDL colesterol em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Em contrapartida outros marcadores de risco cardiovascular não foram alterados (TEIXEIRA et al., 2013).

A redução na deposição hepática de lipídeos foi também observada em mais três outros trabalhos do nosso grupo, um deles em ratos alimentados com dieta ocidental (CÉSAR et al., 2017) e dois em ratos alimentados com dieta balanceada (MORENO et al., 2016; OLIVEIRA et al., 2017). Adicionalmente, Moreno et al. (2016) também demonstraram que a suplementação com a polpa do pequi (2,25 g.100<sup>-1</sup> g de dieta) por 15 semanas em ratos saudáveis resultou em melhoras na estrutura da mucosa do intestino delgado, sem afetar outros marcadores de risco cardiovascular. No estudo de Oliveira et al (2017) foi também demonstrado que ratos saudáveis com suplementação dietética de óleo de pequi (2,25 g.100<sup>-1</sup> g de dieta) tiveram melhora da função cardíaca *ex vivo*, resultado esse provavelmente vinculado ao aumento da razão SERCA2a/PLB. Por outro lado, não se observou efeito sobre marcadores de risco cardiovascular sistêmicos. César et al. (2017) demonstraram em um modelo de obesidade induzida por dieta

ocidental (rica em banha de porco e açúcar), que a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi na proporção de 27% resultou na redução da adiposidade visceral e da deposição de triglicerídeos hepáticos. Ainda, melhorou a função cardíaca de ratos, sem influenciar em outros marcadores de risco cardiovascular.

Assim, os relatos científicos até o momento, indicam que o óleo de pequi apresenta um importante potencial protetor em diversos processos biológicos subjacentes ao desenvolvimento de doenças, em especial, as crônicas não transmissíveis, como a obesidade.

### 3 JUSTIFICATIVA E HIPÓTESE

De maneira geral esse trabalho se baseou nas seguintes premissas:

1. A obesidade é proveniente da ruptura do balanço energético, gerado a partir de um saldo positivo de calorias.
2. A obesidade causa repercussões imunometabólicas negativas ao indivíduo, as quais estão diretamente relacionadas ao desenvolvimento de comorbidades associadas, tais como o diabetes do tipo 2 e doenças cardiovasculares.
3. A quantidade e qualidade em macronutrientes da dieta, com enfoque nos lipídeos dietéticos pode influenciar tanto na ingestão quanto no gasto energético, bem como em respostas imunometabólicas.
4. Os MUFA têm sido apontados, dentre os lipídeos dietéticos, como promissores na regulação da ingestão alimentar e na elevação da termogênese e a melhorias em condições pró-inflamatórias.
5. Dietas ricas em antioxidantes, como os carotenoides, podem atenuar o quadro do estresse oxidativo e inflamatório resultando em melhoras no controle do balanço energético.
6. O óleo de pequi é rico em MUFA e diversos compostos antioxidantes, mas não foi estudado no contexto do balanço energético.

Desta forma, nossa hipótese é de que a substituição parcial do conteúdo lipídico, tanto em uma dieta balanceada quanto em uma dieta hiperlipídica, por óleo de pequi promoverá respostas benéficas em indicadores do balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos associados à obesidade.

Assim, nossa investigação foi voltada para investigar dois aspectos:

- 1) *Ao substituírmos parte do óleo de soja por óleo de pequi em uma dieta balanceada, observaremos respostas benéficas na termogênese, no comportamento alimentar e em biomarcadores imunometabólicos?*
- 2) *Ao substituírmos parte da banha de porco e do óleo de soja por óleo de pequi em uma dieta hiperlipídica observaremos as mesmas respostas ou respostas diferentes daquelas encontradas no contexto de dieta balanceada?*

## **4 OBJETIVOS**

### **4.2 Geral**

Investigar efeitos da ingestão do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dietas balanceada e hiperlipídica.

### **4.3 Específicos**

- ✓ Avaliar a ingestão alimentar, a antropometria e a adiposidade.
- ✓ Avaliar indicadores da termogênese.
- ✓ Avaliar indicadores do comportamento alimentar.
- ✓ Avaliar biomarcadores imunometabólicos.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1. Ensaio biológico

O óleo de pequi utilizado no ensaio biológico foi adquirido no comércio local de Diamantina-MG e mantido sob refrigeração ( $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ) em frasco âmbar até o momento da sua utilização.

#### 5.1.1. Animais e condições experimentais

Foram utilizados 36 camundongos *Swiss* machos, com 15 semanas de idade, adquiridos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. O experimento foi conduzido no Laboratório de Ensaio Biológicos (LEB) do Centro Integrado de Pós-graduação e Pesquisa em Saúde (CIPq) da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM), em sala climatizada ( $22\text{-}24^{\circ}\text{C}$ ), em ciclo claro/escuro de 12 horas invertido ao ciclo regular. Os animais foram mantidos, manipulados e sacrificados de acordo com os princípios éticos para uso de animais de laboratório do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA (<https://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/institucional/concea/index.html>). O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais Experimentais da UFVJM – CEUA/ UFVJM. (Protocolo 012/2017).

#### 5.1.2 Dietas experimentais

Foram formuladas dietas purificadas, tendo como base as recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93 G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) e a fórmula D12492 da *Research Diets Inc.* (<https://researchdiets.com/opensource-diets/dio-series-diets>) para dieta controle e dieta hiperlipídica, respectivamente. As dietas foram rotuladas em: dieta controle (C), dieta C adicionada de óleo de pequi (CP), dieta hiperlipídica (HL) e dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP). A C teve a composição adequada para o crescimento dos animais (Tabela 1), a CP teve uma parcela do óleo de soja substituída por óleo de pequi na proporção de 43,3g/kg, a HL teve a composição ajustada para tornar-se com elevado teor de lipídeos provenientes da banha de porco (Tabela 1) e na dieta HLP, o óleo de pequi foi adicionado na proporção de 60g/kg em substituição parcial tanto do óleo de soja quanto da banha de porco (Tabela 1).

As quantidades de óleo de pequi utilizadas nas dietas CP e HLP, corresponderam a aproximadamente 1% das calorias lipídicas advindas do óleo de pequi. Este valor foi definido conforme estudo prévio realizado por nosso grupo (CÉSAR et al., 2017), para manter uma oferta

mínima de ácidos graxos essenciais (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) e para promover alteração na proporção de SFA/MUFA da dieta, de modo a oferecer um percentual de MUFA segundo Lopez-Huertas (2010).

**Tabela 1. Composição das dietas experimentais**

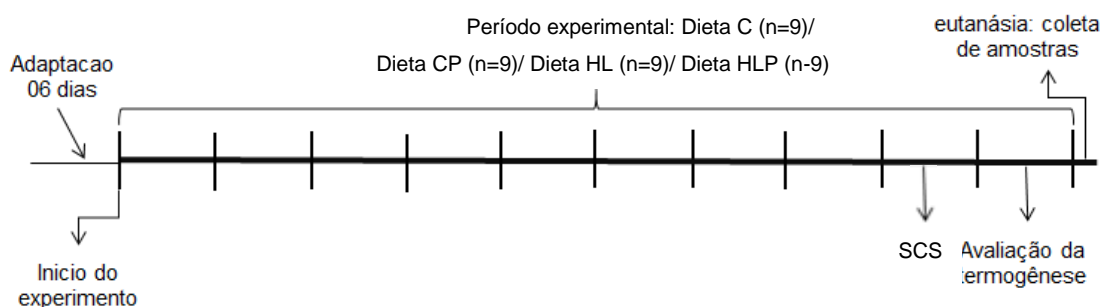
Ingredientes (g/kg)	Dietas experimentais*			
	C	CP	HL	HLP
Caseína	200,0	200,0	261,8	261,8
Amido dextrinizado	132,0	132,0	163,7	163,7
Sacarose	100,0	100,0	90,1	90,1
Celulose microfina	50,0	50,0	65,5	65,5
Óleo de soja	70,0	26,7	32,7	26,7
Banha de porco	0,0	0,0	320,8	266,8
Mix mineral	35,0	35,0	45,8	45,8
Mix vitaminas	10,0	10,0	13,1	13,1
L-cistina	3,0	3,0	3,9	3,9
Bitartarato de colina	2,5	2,5	2,6	2,6
Amido de milho	397,5	397,5	0,0	0,0
Óleo de pequi	0,0	43,3	0,0	60,0
<b>Macronutrientes (kcal/%)</b>	<b>C</b>	<b>CP</b>	<b>HL</b>	<b>HLP</b>
Proteína	20,3	20,3	20,0	20,0
Carboidratos	63,8	63,8	19,4	19,4
Lipídeos	16,0	16,0	60,7	60,7
<b>Densidade calórica (kcal/g)</b>	<b>4,0</b>	<b>4,0</b>	<b>6,0</b>	<b>6,0</b>

\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja, HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco.

### 5.1.3. Desenho do experimento

Antes do início do experimento, os camundongos foram alojados individualmente em caixas de polipropileno, no ambiente experimental por uma semana, para se adaptarem às condições ambientais. No primeiro dia do experimento, eles foram divididos aleatoriamente em quatro grupos, conforme as dietas experimentais: C, CP, HL e HLP. O experimento teve duração de 10 semanas. A Figura 2 ilustra o desenho experimental.

Figura 2 - Esquema ilustrativo do protocolo experimental de 10 semanas.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja, HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco.

Durante o experimento, todos os animais tiveram acesso livre às dietas e à água filtrada. Na 9<sup>a</sup> e na 10<sup>a</sup> semana, todos os animais foram submetidos aos testes da sequência comportamental de saciedade e da avaliação da termogênese. A massa corporal e a ingestão alimentar foram monitoradas durante todo o protocolo experimental. Ao final da décima semana, após jejum de 8 horas, todos os animais foram pesados e anestesiados. Em seguida, foi coletada uma amostra do sangue da calda para aferição da glicemia capilar, foi aferido o comprimento nariz-ânus e posteriormente todos os animais foram eutanasiados por meio de deslocamento cervical. O sangue foi coletado e processado para a separação do soro, as amostras foram aliquotadas e mantidas a -80 °C para análises posteriores. Foram também coletados o tecido adiposo dos compartimentos epididimal, retroperitoneal e mesentérico, coração, fígado e pâncreas os quais foram higienizados e pesados em balança analítica.

## 5.2. Procedimentos de análises

### 5.2.1. Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade

As massas corporais dos animais foram aferidas a cada sete dias em balança semi-analítica e foi calculado o ganho de massa corporal (GMC) no final do experimento, conforme a equação:

$$GMC (g) = massa\ corporal\ final (g) - massa\ corporal\ inicial (g)$$

A ingestão alimentar absoluta (g) foi aferida pela pesagem de dieta ofertada e sobras (g ofertadas – g sobras = g ingeridas). Foi também calculada a ingestão alimentar média diária (ingestão alimentar total dividida pelo número de dias do experimento). A ingestão calórica total



foi obtida multiplicando-se a ingestão alimentar total pela densidade calórica de cada dieta. A ingestão calórica média diária também foi obtida pela divisão da ingestão calórica total pelo número de dias do experimento.

A eficiência em transformar calorias consumidas em massa corporal foi determinada por meio do coeficiente de eficiência energética (CEE), expresso em %, utilizando a equação:

$$CEE = [\text{ganho de massa corporal total (g)} / \text{ingestão calórica total (kcal)}] \times 100$$

O índice de Lee foi calculado no último dia do experimento. Para tal, os animais foram pesados, anestesiados com aplicação intraperitoneal de solução de quetamina + xilazina (50mg/kg+10mg/kg, respectivamente). Em seguida, foram posicionados em decúbito dorsal para a aferição do comprimento nariz-ânus por meio de uma régua milimetrada, para posterior determinação do Índice de Lee (BERNADS e PETERSON, 1968), conforme a equação:

$$IL \text{ (g/cm)} = [\text{Raiz cúbica da massa corporal (g)} / \text{comprimento nariz-ânus}^2 \text{ (cm)}] \times 10$$

As massas absolutas das gorduras epididimal, retroperitoneal e mesentérica foram utilizadas para o cálculo do índice de adiposidade visceral - IAd (BOUSTANY et al., 2004), conforme a equação:

$$IAd = [(\text{massa da gordura epididimal} + \text{massa da gordura retroperitoneal} + \text{massa da gordura mesentérica}) / (\text{massa corporal final} - \sum \text{massa da gordura epididimal} + \text{retroperitoneal} + \text{mesentérica})] \times 100$$

### **5.2.2. Indicadores da termogênese**

No início da 10ª semana após uma noite de jejum (12 horas), todos os animais foram submetidos à avaliação do consumo de oxigênio (VO<sub>2</sub>) e produção de gás carbônico (VCO<sub>2</sub>). Para isso, foram colocados individualmente em um calorímetro indireto monitorado por computador (Oxylepto, Harvard Apparatus, Spain) acoplado a uma câmara metabólica (fluxo de ar = 1,0/min). Os parâmetros calorimétricos foram registrados por meio do software Metaoxy (Harvard Apparatus, Spain), durante 60 minutos. A partir dessas medidas, foram estimadas a taxa metabólica basal (TMB - kcal) e o quociente respiratório (QR = VCO<sub>2</sub>/VO<sub>2</sub>). As taxas de oxidação de lipídeo e carboidrato (mg/min) foram obtidas conforme (ZASLAV et al., 2012), por meio das equações:

$$\text{Taxa de oxidação de lipídeo (mg/min)} = -1,7012 * VCO_2 + 1,6946 VO_2$$

$$\text{Taxa de oxidação de carboidrato (mg/min)} = 4,585 * VCO_2 - 3,2255 VO_2$$

### 5.2.3. Indicadores do comportamento alimentar

O comportamento alimentar foi avaliado por meio do Teste de *Sequecia comportamental da saciedade* – (SCS), o qual foi realizado de acordo com Halford, Wanninayake e Blundell (1998). O teste foi realizado durante sessenta minutos, com cada animal alojado individualmente em caixa de polipropileno (dimensões: altura: 13cm, comprimento: 30cm e largura: 20cm), em sala apropriada (mesmas condições experimentais), a qual continha um sistema de filmagem acoplado à computador.

O teste foi realizado com todos os animais dos quatro tratamentos de dietas, da seguinte forma:

1. Cada animal foi alojado individualmente em caixa de polipropileno, a qual foi colocada em bancada apropriada na sala do teste.
2. A massa corporal individual foi aferida imediatamente antes de submeter os animais à jejum de 4 horas.
3. Após o jejum, foi ofertada quantidade de dieta conhecida (C ou CP ou HL ou HLP).
4. Durante 60 minutos, o sistema de filmagem registrou as imagens do comportamento dos animais.
5. Ao final dos sessenta minutos, a massa corporal e a quantidade de dieta não ingerida de cada animal foram mensuradas em balança analítica.
6. As imagens captadas durante o teste, para cada animal, foram analisadas por observador treinado.

A partir da observação comportamental da alimentação, foram determinados os seguintes indicadores:

- *Ingestão alimentar, lipídica e calórica total do teste* - dieta ou g lipídeos ou kcal total ou kcal lipídica/60 minutos.
- *Porcentagem da ingestão alimentar, lipídica e calórica diárias* durante o teste.
- *Frequência da alimentação* - número de vezes que o animal procurou o comedouro e se alimentou.
- *Velocidade da alimentação* - quantidade de dieta consumida/tempo comendo (gramas/segundo)

- *Tamanho da “refeição*: quantidade total de dieta ingerida (g) / frequência da alimentação (em 60 minutos)
- *Alimentação*: tempo, em segundos, que o animal apresentou-se ingerindo alimento, roendo, mastigando e segurando a dieta com as patas.
- *Atividade*: tempo, em segundo, que o animal gastou para a realização de movimentos ao redor da caixa ou cheirando o ambiente
- *Repouso*: tempo em segundos que o animal se apresentou em posição de descanso, isto é, o corpo repousado sobre o assoalho da caixa ou dormindo.
- *Grooming*: tempo em segundos que o animal gastou com cuidados com o corpo, lambendo as patas anteriores e as movimentando sobre a cabeça, continuando com o lamber da região ventral, do dorso e das patas posteriores.

#### ***5.2.4 Biomarcadores imunometabólicos***

##### ***5.2.4.1 Glicemia capilar***

No último dia do experimento, após jejum e anestesia (descritos no item 5.2.1), amostras de sangue foram coletadas da ponta da cauda e a concentração de glicose capilar foi aferida em medidor portátil de glicose (ROCHE, ACCU-CHEK PERFORMA NANO, RIO DE JANEIRO, BRASIL).

##### ***5.2.4.2 Concentrações séricas de adiponectina, proteína C reativa (PCR) e citocinas pró-inflamatórias***

No momento da eutanásia o sangue foi coletado em tubos sem anticoagulante para obtenção do soro. Para tal, os tubos foram centrifugados a 1000 x g durante 10 minutos a 4°C. Após a centrifugação, o soro foi aliquoteado em tubos de polipropileno e armazenado a -80°C até o momento das análises.

As concentrações de PCR e adiponectina foram determinadas por meio da técnica *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* – ELISA, utilizando kits de reagentes apropriados (Mouse C-reactive protein/CRP DUOSET® ELISA e mouse adiponectin/acrp30 DUOSET® ELISA kits, R&D systems) e com auxílio de leitor de microplaca Spectra MAX 190 (Molecular Devices, USA). As concentrações séricas dessas proteínas foram expressas em pg/mg de proteína total do tecido. A concentração total de proteínas foi determinada previamente pelo método de BRADFORD (1976).

As concentrações das citocinas IL12p70, TNF; IFN- $\gamma$  e MCP-1 foram determinadas pelo método de *Cytometric Bead Array* – CBA de acordo com instruções do fabricante, utilizando kit apropriado (BDBioscience) e o citômetro BD FACSCanto II. Os resultados foram expressos em pg/mL.

### 5.3. Análises estatísticas

O experimento foi realizado em um delineamento inteiramente casualizado. Os resultados foram expressos em médias  $\pm$  desvio padrão. A normalidade dos dados foi verificada por meio do teste de Shapiro-Wilk. Para as comparações entre os grupos de dieta balanceada, foi utilizado o Teste T de Student. Para as comparações entre os grupos de dieta hiperlipídica, foi utilizada análise de variância de um fator, *one-way* ANOVA, e teste de Tukey, a posteriori sempre que necessário. O software Statistica v.10.0 foi utilizado em todas as análises estatísticas. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados significativos. Gráficos foram elaborados utilizando o software Prism 5.0.

## 6 RESULTADOS

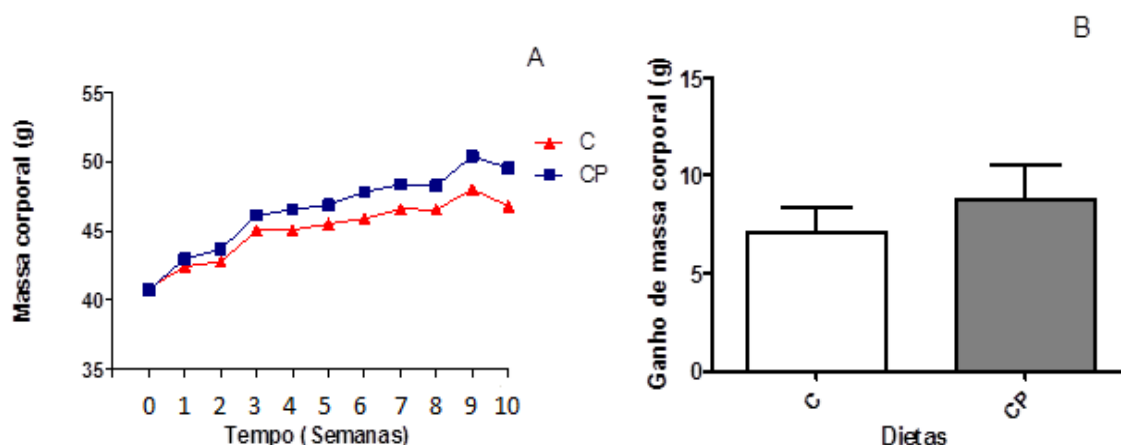
Para efeito didático, os resultados foram organizados e apresentados de acordo com as duas principais questões do estudo.

### 6.1. Efeitos da ingestão do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dieta balanceada.

#### 6.1.1. Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade

No início do experimento, as massas corporais dos animais eram homogêneas ( $C = 40,86 \pm 1,70$  e  $CP = 40,74 \pm 2,61$ ). Ambos os grupos C e CP ganharam massa corporal de forma semelhante ao longo do experimento (Figura 3A). Ao final, a massa corporal média do grupo CP ( $49,56 \pm 7,13$ ) foi aproximadamente 5,5% superior à do grupo C ( $46,82 \pm 5,46$ ), mas esta diferença não foi significativa ( $p > 0,05$ ). O mesmo foi observado para o ganho de massa corporal ( $C = 7,08 \pm 3,58$ ;  $CP = 8,82 \pm 5,03$ ; Figura 3B).

Figura 3 – Evolução da massa corporal e ganho de massa corporal de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.

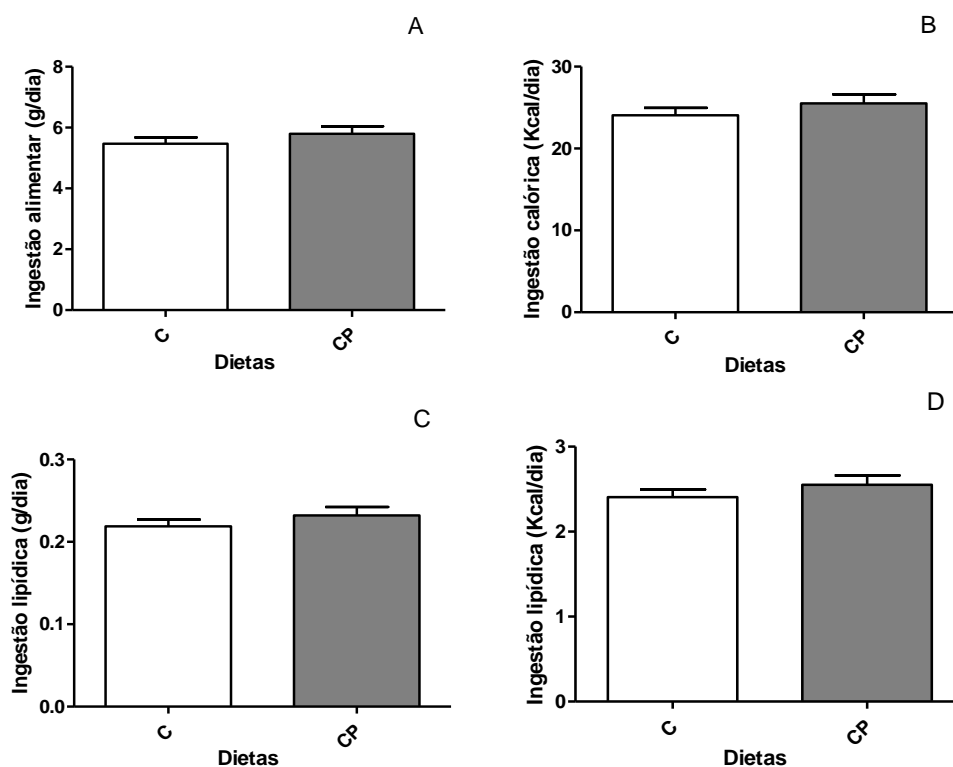


C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

Em consonância, não houve diferença significativa entre os grupos experimentais para a ingestão alimentar absoluta ( $5,5 \pm 0,6$  e  $5,8 \pm 0,7$ g/dia para C e CP, respectivamente; Figura 4A) e calórica ( $24,1 \pm 2,5$  e  $25,5 \pm 3,1$  kcal/dia para C e CP respectivamente; Figura 4B). Consequentemente, não foram detectadas diferenças significativas entre os grupos, tanto a ingestão lipídica absoluta ( $0,22 \pm 0,02$  e  $0,23 \pm 0,03$  g/dia para C e CP, respectivamente; Figura

4C) quanto para a calórica ( $2,41 \pm 0,25$  e  $2,55 \pm 0,31$  kcal/dia para C e CP, respectivamente; Figura 4D).

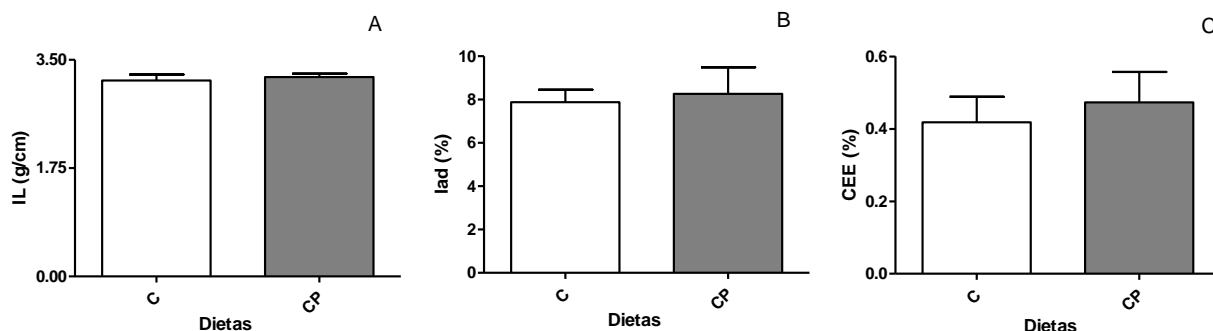
Figura 4 – Ingestão alimentar (g e Kcal) e ingestão lipídica (g e Kcal) diárias de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

Em consonância, não foram também detectadas diferenças significativas entre os grupos experimentais para o Índice de Lee ( $3,21 \pm 0,26$  e  $3,22 \pm 0,16$  g/cm para C e CP, respectivamente; Figura 5A); para o Índice de Adiposidade Visceral ( $7,88 \pm 1,62$  e  $8,27 \pm 3,45\%$  para C e CP, respectivamente; Figura 5B) e para o Coeficiente de Eficiência Energética (CEE) ( $0,42 \pm 0,20$  e  $0,47 \pm 0,24$  para C e CP, respectivamente; Figura 5C).

Figura 5 - Índice de Lee, Índice de Adiposidade Visceral e Coeficiente de Eficiência Energética de camundongos alimentados com dietas balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. IL = Índice de Lee, Iad = Índice de Adiposidade Visceral, CEE = Coeficiente de Eficiência Energética. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

Em relação as massas absolutas e relativas dos órgãos, também não foi encontrada diferença significativa entre os grupos C e CP ( $p < 0,05$ ; Tabela 2).

Tabela 2 - Massas absolutas (g) e relativizadas pela massa corporal (%) de órgãos de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.

Órgãos	Grupos experimentais (n=9)	
	C	CP
Fígado (g)	1,67 $\pm$ 0,19	1,89 $\pm$ 0,24
Fígado (%)	3,62 $\pm$ 0,60	3,83 $\pm$ 0,26
Coração (g)	0,25 $\pm$ 0,04	0,22 $\pm$ 0,03
Coração (%)	0,53 $\pm$ 0,11	0,45 $\pm$ 0,05
Pâncreas (g)	0,43 $\pm$ 0,08	0,46 $\pm$ 0,07
Pâncreas (%)	0,92 $\pm$ 0,19	0,93 $\pm$ 0,09

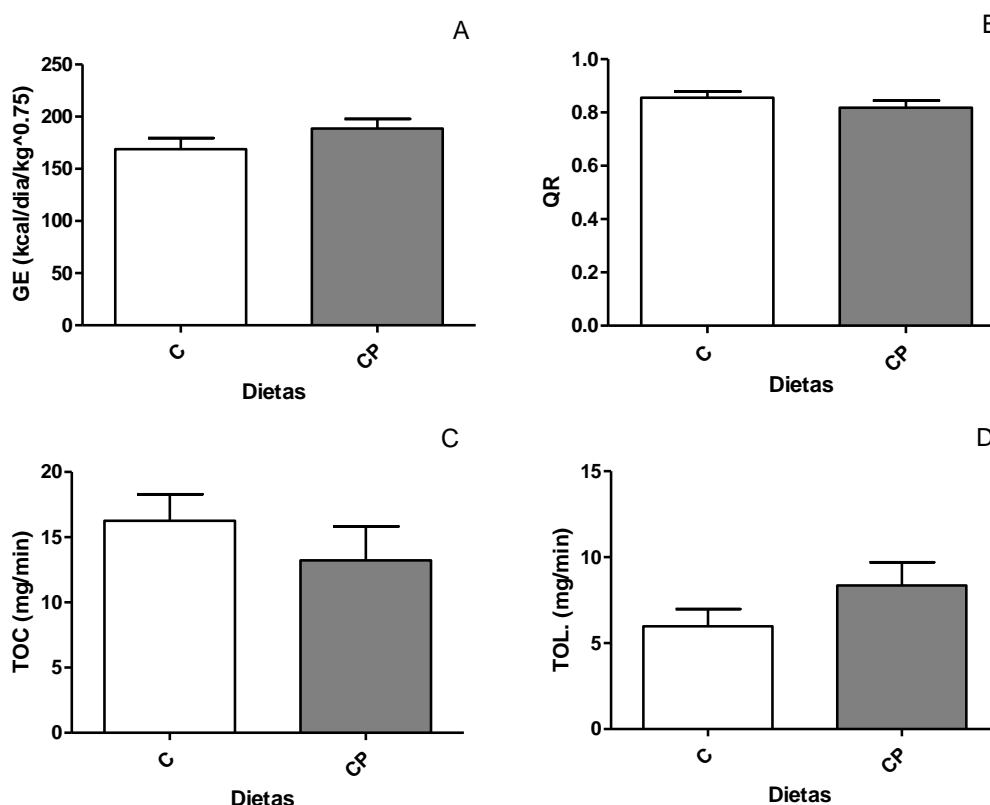
C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

### 6.1.2. Indicadores da termogênese

Em relação aos indicadores da termogênese, observamos que o gasto energético (GE) não diferiu entre os grupos C e CP ( $168,77 \pm 30,37$  e  $188,65 \pm 25,87$  Kcal/dia/kg<sup>0,75</sup>), respectivamente,  $p < 0,05$ ), não havendo efeito diferencial da substituição parcial do óleo de soja por óleo de pequi (Figura 6A). O mesmo resultado foi observado para o Quociente Respiratório (QR) (C =  $0,85 \pm 0,06$  e CP =  $0,82 \pm 0,08$ ; Figura 6B), taxa de oxidação de carboidrato (C =

16,26  $\pm$  5,76 e CP = 13,22  $\pm$  7,37 mg/min; Figura 6C) e taxa de oxidação de lipídeo (C = 5,98  $\pm$  2,83 e CP = 8,35  $\pm$  3,83 mg/min; Figura 6D).

Figura 6 – Indicadores da termogênese de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



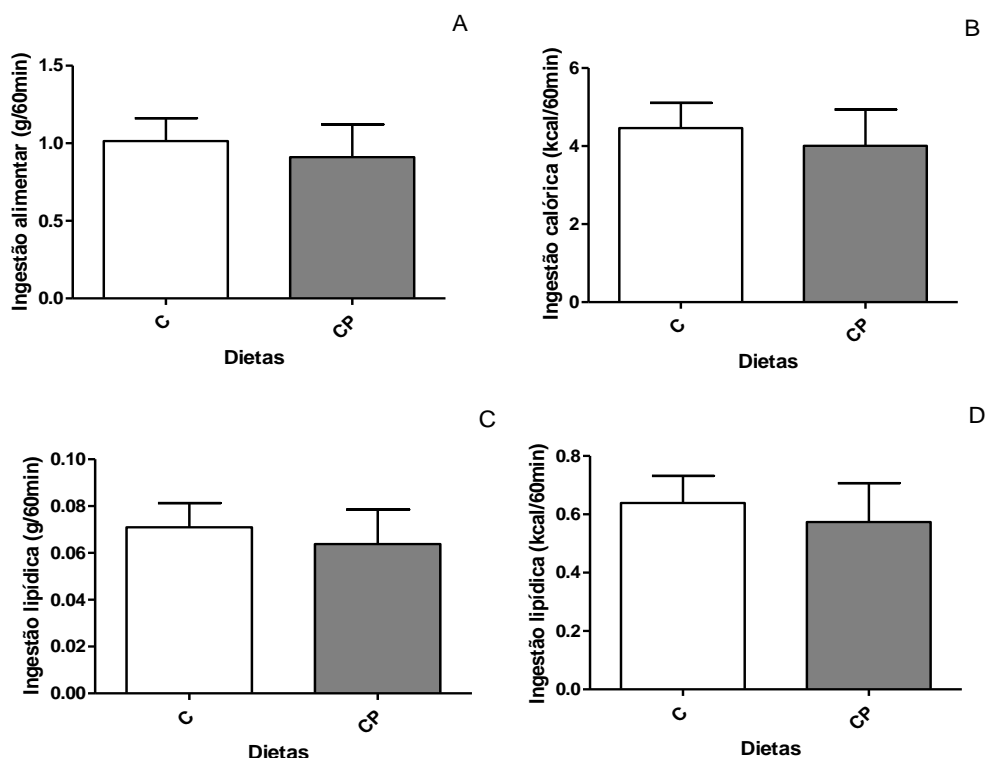
C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. GE = Gasto energético; QR = Quociente respiratório; TOC = Taxa de oxidação de carboidratos; TOL= Taxa de oxidação de lipídeos. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

### 6.1.3. Indicadores do comportamento alimentar

A substituição parcial de óleo de soja por óleo de pequi não alterou a ingestão alimentar dos camundongos durante o teste de sequência comportamental da saciedade (C = 1,01  $\pm$  0,42 e CP = 0,91  $\pm$  0,60 g/60min; Figura 7A). Consequentemente a ingestão calórica também não foi alterada entre os grupos C e CP (4,46  $\pm$  1,83 e 4,01  $\pm$  2,62 kcal/60min, respectivamente; Figura 7B). O mesmo padrão de se repetiu para a ingestão lipídica (C = 0,07  $\pm$  0,03 e CP = 0,06  $\pm$  0,04 g/60min; Figura 7C) e a ingestão calórica lipídica (C = 0,64  $\pm$  0,26 e CP = 0,57  $\pm$  0,38 kcal/60min; Figura 7D).



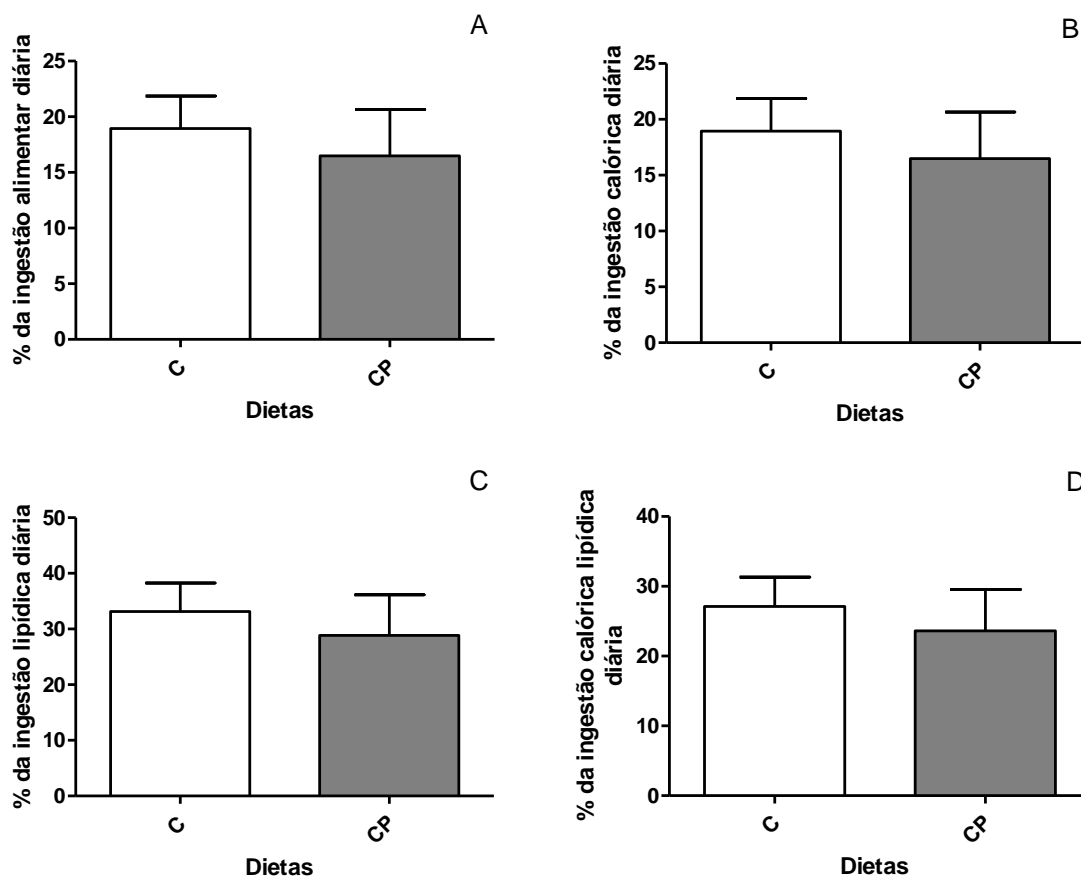
Figura 7 – Ingestão alimentar, lipídica e calórica durante o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

A ingestão alimentar durante o teste representou  $18,95 \pm 8,23\%$  da ingestão alimentar diária para o grupo C e  $16,49 \pm 11,78\%$  para o grupo CP. Não houve diferença significativa entre os grupos (Figura 8A). Em consonância, o mesmo resultado foi observado para a porcentagem da ingestão calórica (Figura 8B). Como as dietas eram isoenergéticas e de composição semelhante, não houve também diferenças para as porcentagens da ingestão lipídica ( $C = 33,16 \pm 14,41$  e  $CP = 28,85 \pm 20,61 \%$ ; Figura 8C) e calórica lipídica ( $C = 27,13 \pm 11,79$  e  $CP = 23,61 \pm 16,86\%$ ; Figura 8D).

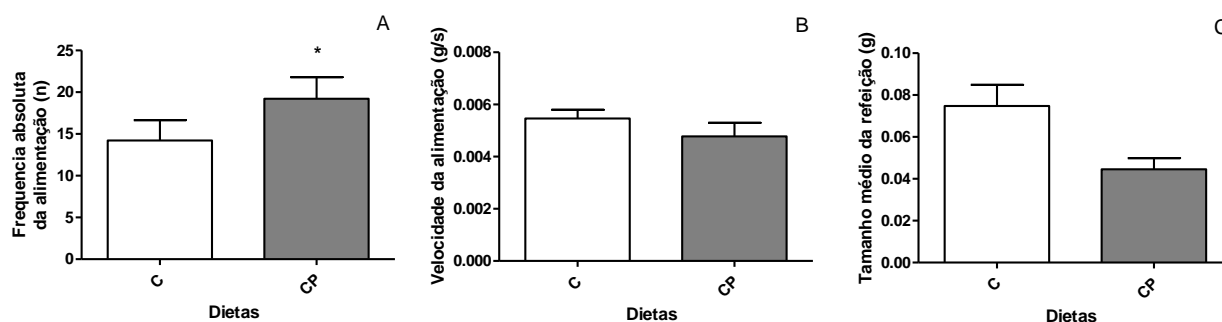
Figura 8 – Porcentagem da ingestão alimentar, lipídica e calórica diárias durante o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

A frequência da alimentação (número de vezes que o animal se alimentou ou número de “refeições”) foi superior para o grupo CP ( $19,18 \pm 7,27$  vezes;  $p < 0,05$ ) em comparação ao C ( $14,20 \pm 6,89$  vezes;  $p < 0,05$ ; Figura 9A). A velocidade da alimentação não diferiu entre os grupos experimentais (CP =  $0,0048 \pm 0,0015$  e C =  $0,0054 \pm 0,0009$ g/seg;  $p < 0,05$ , Figura 9B). Embora não tenhamos detectado diferença significativa entre os grupos para o tamanho médio da refeição (Figura 9C), esse valor foi aproximadamente 40% menor para o grupo CP em relação ao C (C =  $0,09 \pm 0,05$  e CP =  $0,04 \pm 0,02$ ).

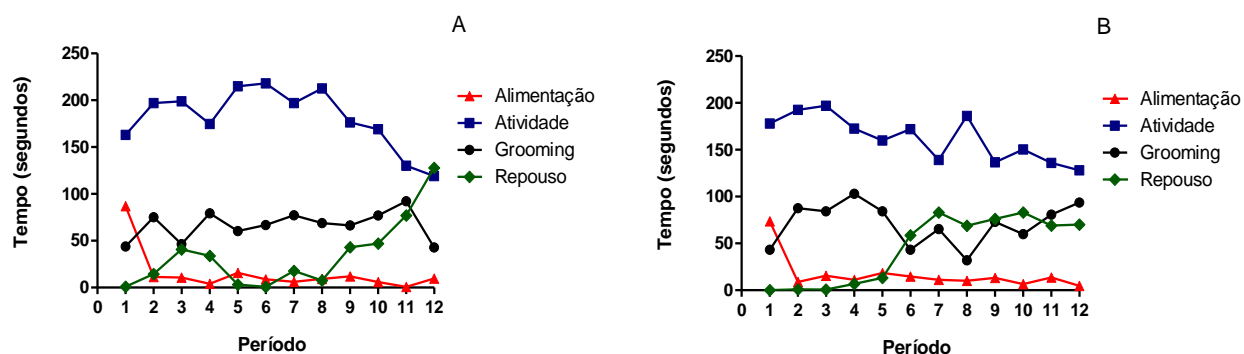
Figura 9 – Frequência absoluta da alimentação, velocidade da alimentação e tamanho de porção durante o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

Na observação qualitativa da sequência comportamental da saciedade, houve um decaimento brusco no tempo de alimentação entre 5 e 10 minutos de teste para ambos os grupos C e CP. Após, o comportamento em relação ao tempo de alimentação se manteve similar entre C e CP até o final do teste. Podemos dizer também que no grupo C, elevação do tempo de repouso tendeu a ocorrer apenas a partir do oitavo período de registro (40 minutos de teste), enquanto que no grupo CP, isso aconteceu a partir do quinto período de registro (30 minutos de registro). Outro ponto contrastante é que no grupo C, a partir dos 50 minutos de teste, os animais iniciaram uma queda brusca no tempo de atividade até o que foi compatível com o aumento do tempo de repouso. No grupo CP, o tempo de atividade tendeu a cair, de maneira menos drástica, a partir do terceiro período (15 minutos de teste), e variou mais até o final do teste. As variações de tempo com o comportamento de “grooming” foram similares entre os grupos (Figura 10).

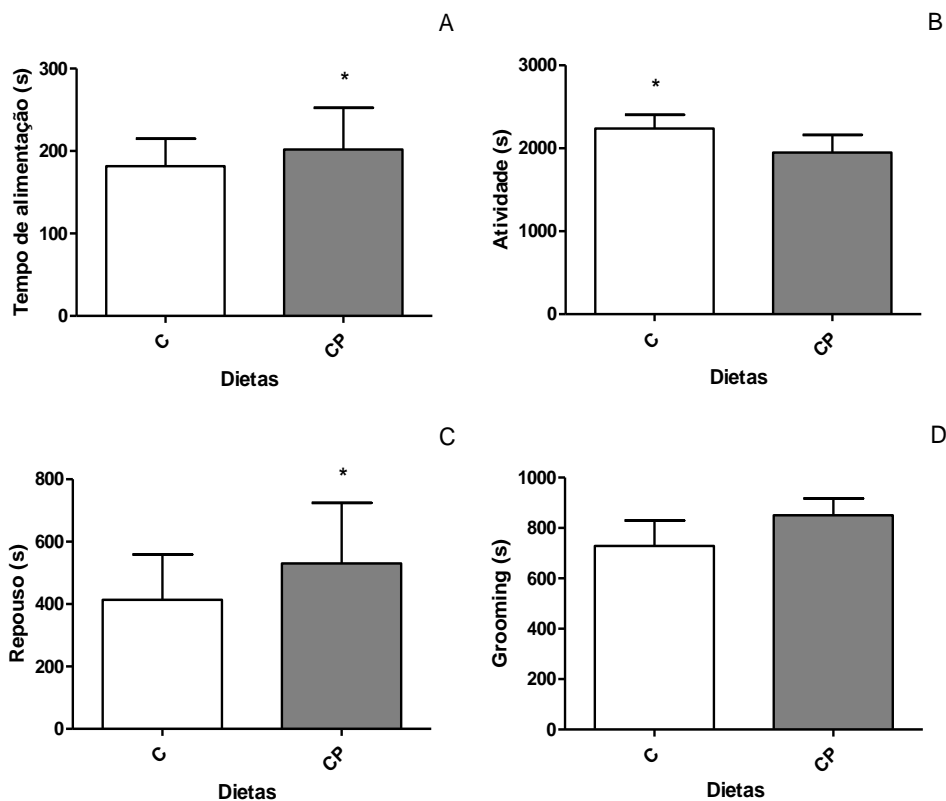
Figura 10 – Sequência comportamental da saciedade em períodos de 5 minutos de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



(A) = Animais alimentados com dieta C - baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); (B) = Animais alimentados com dieta CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja.

Convergindo com os dados já apresentados, o tempo de alimentação do grupo CP ( $201,79 \pm 143,33$ ) foi significativamente maior do que o do grupo C ( $181,56 \pm 94,25$  segundos;  $p < 0,05$ ; Figura 11A). Logo, o tempo de atividade para este grupo (CP =  $1948,00 \pm 600,04$  segundos), foi menor do que o do grupo C ( $2237,63 \pm 467,77$  segundos;  $p < 0,05$ ; Figura 11B). Adicionalmente, o grupo CP ( $530,53 \pm 548,92$  segundos) apresentou maior tempo de repouso em relação ao C ( $413,56 \pm 411,56$  segundos;  $p < 0,05$ ; Figura 11C). Já o *grooming* não diferiu entre os grupos C e CP ( $728,67 \pm 284,37$  e  $850,19 \pm 189,67$  segundos, respectivamente,  $p < 0,05$ ; Figura 11D)

Figura 11 – Tempo de alimentação, de atividade, repouso e *grooming* ao final o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.



C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student,  $p < 0,05$ .

#### 6.1.4. Biomarcadores imunometabólicos

Verificamos que no grupo CP houve redução na concentração de adiponectina em relação ao C ( $p < 0,05$ ) e o inverso foi observado para a IL12p70 ( $p < 0,05$ , Tabela 3). Não houve diferenças significativas entre os grupos para as demais citocinas (Tabela 3). Embora não tenha havido diferença significativa para a glicemia (Tabela 3), é importante observar que a concentração de glicose para o grupo CP foi 13% superior.

Tabela 3 – Biomarcadores imunometabólicos plasmáticos de camundongos alimentados com dieta balanceada ou contendo óleo de pequi.

Marcadores imunometabólicos	Grupos experimentais (n=9)	
	C	CP
Glicemia (mg/dL)	121,88 ± 18,95	138,17 ± 19,71
Adiponectina. (ng/mg proteína)	92,16 ± 10,16*	59,45 ± 10,46
Proteína C reativa (ng/mg proteína)	54,50 ± 7,89	53,87 ± 7,47
IL12p70 (pg/mL)	3,80 ± 1,23	4,65 ± 0,38*
TNF (pg/mL)	3,69 ± 1,20	3,75 ± 2,60
IFN-γ (pg/mL)	0,27 ± 0,22	0,35 ± 0,11
MCP-1 (pg/mL)	20,73 ± 1,50	21,67 ± 4,95

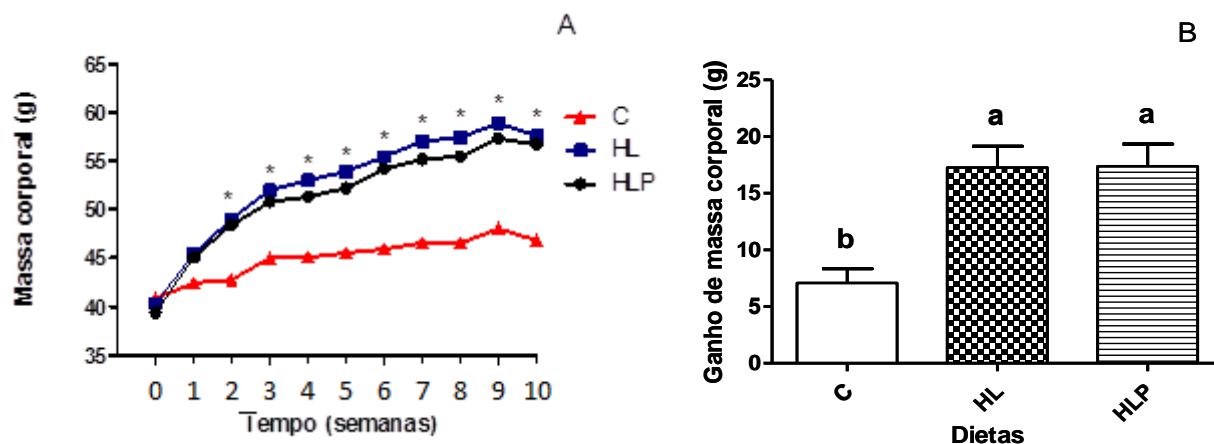
C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); CP = dieta C adicionada de óleo de pequi na proporção de 43,3 g/kg em substituição ao óleo de soja. Valores expressos em média ± desvio padrão. \* indica diferença por Teste T de Student, p<0,05.

## 6.2. Efeitos da ingestão do óleo de pequi (*Caryocar brasiliense*) no balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.

### 6.2.1. Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade

No início do experimento, as massas corporais dos animais eram semelhantes (C = 40,96±1,70; HL = 40,31±2,39 e HLP = 39,35±1,41g) (Figura 12A). Todos os animais ganharam massa corporal ao longo do experimento, mas a partir da terceira semana, os grupos HL e HLP ganharam igualmente mais massa e em comparação ao C (p<0,05; Figura 12A). Ao final, os animais do grupo HL permaneceram com massas corporais (56,81±6,27g) semelhantes ao grupo HLP (55,07±5,63g) e ambos foram igualmente superiores ao grupo C (46,52±4,15; p<0,05, Figura 12A). O mesmo resultado foi observado para o ganho de massa corporal (C = 5,96±1,20; HL = 17,26±5,71; HLP = 17,36±5,59 g; p<0,05; Figura 12B).

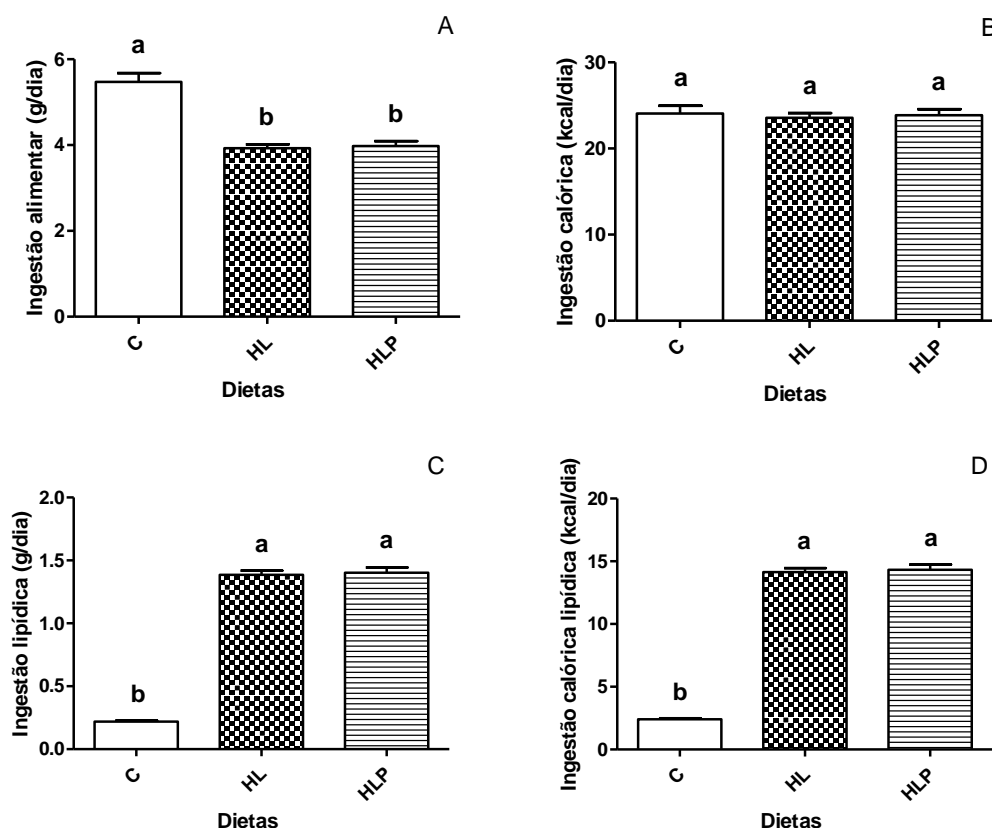
Figura 12 – Evolução da massa corporal (A) e ganho de massa corporal (B) de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica contendo óleo de pequi.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. \* Indica diferença dos grupos HL e HLP em relação ao grupo C. Barras acompanhadas de letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

A ingestão alimentar diária foi igualmente menor para os grupos HL e HLP ( $3,93 \pm 0,27$  e  $3,98 \pm 0,33$ g, respectivamente) em comparação ao C ( $5,47 \pm 0,58$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 13A). Não houve diferença significativa para a ingestão calórica diária entre os três grupos experimentais (C =  $24,07 \pm 2,54$ ; HL =  $23,56 \pm 1,63$  e HLP =  $23,87 \pm 1,99$  kcal/dia; Figura 13B). Em consonância, a ingestão lipídica diária dos grupos HL e HLP ( $1,39 \pm 0,10$  e  $1,40 \pm 0,12$  g, respectivamente) foi igualmente maior do que a do grupo C ( $0,22 \pm 0,02$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 13C). Consequentemente, a ingestão calórica lipídica diária foi também superior nos grupos HL e HLP ( $14,14 \pm 0,98$  e  $14,32 \pm 1,19$  kcal, respectivamente) em relação ao grupo C ( $2,41 \pm 0,25$  kcal;  $p < 0,05$ ; Figura 13D).

Figura 13 – Ingestão alimentar (g e kcal) e ingestão lipídica (g e Kcal) de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica contendo óleo de pequi.

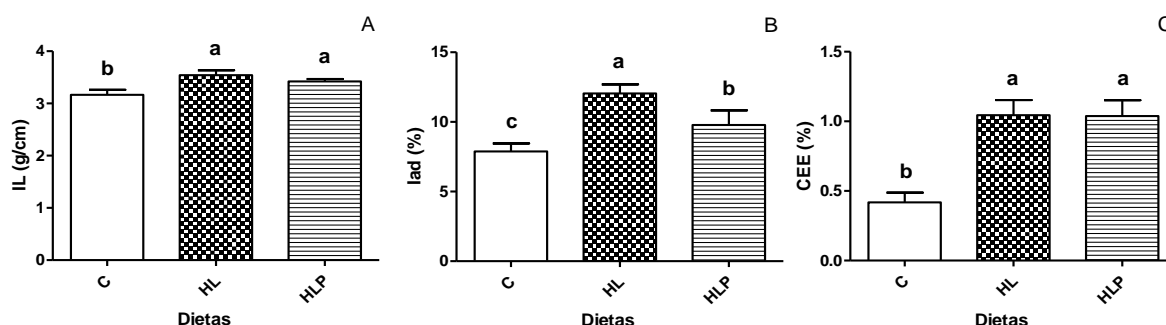


\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

Para o IL não foram detectadas diferenças entre os grupos HL e HLP ( $3,54 \pm 0,27$  e  $3,42 \pm 0,13$  respectivamente) sendo estes superiores ao C ( $3,21 \pm 0,26$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 14A). No entanto, o grupo HL apresentou IAd maior ( $12,04 \pm 1,95\%$ ) que o grupo HLP ( $9,79 \pm 2,96\%$ ), e este maior que o grupo C ( $7,88 \pm 1,62$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 14B). O CEE não foi diferente entre os grupos HL e HLP ( $1,04 \pm 0,32$  e  $1,05 \pm 0,32\%$ , respectivamente) sendo ambos superiores ao grupo C ( $0,42 \pm 0,20\%$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 14C).



Figura 14 – Índice de Lee (A), Índice de Adiposidade Visceral (B), e Coeficiente de Eficiência Energética (C) de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica contendo óleo de pequi.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. IL = Índice de Lee, IAd = Índice de Adiposidade Visceral, CEE = Coeficiente de Eficiência Energética. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way* ANOVA e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

Os fígados dos camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, com e sem óleo de pequi, pesaram mais que os dos animais controles ( $p < 0,05$ ; Tabela 3). Entretanto, quando esses valores foram relativizados pela massa corporal essa diferença não foi mais detectada. Não houve diferença entre os grupos experimentais para as massas absolutas dos corações (Tabela 3). Ao contrário dos fígados, quando esses valores foram relativizados pelas massas corporais, foram igualmente inferiores nos grupos HL e HLP em comparação ao C ( $p < 0,05$ , Tabela 3). Não houve diferença significativa entre os grupos experimentais para as massas absolutas e relativas do pâncreas (Tabela 4).

Tabela 4 – Massas absolutas e relativas de órgãos de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica contendo óleo de pequi.

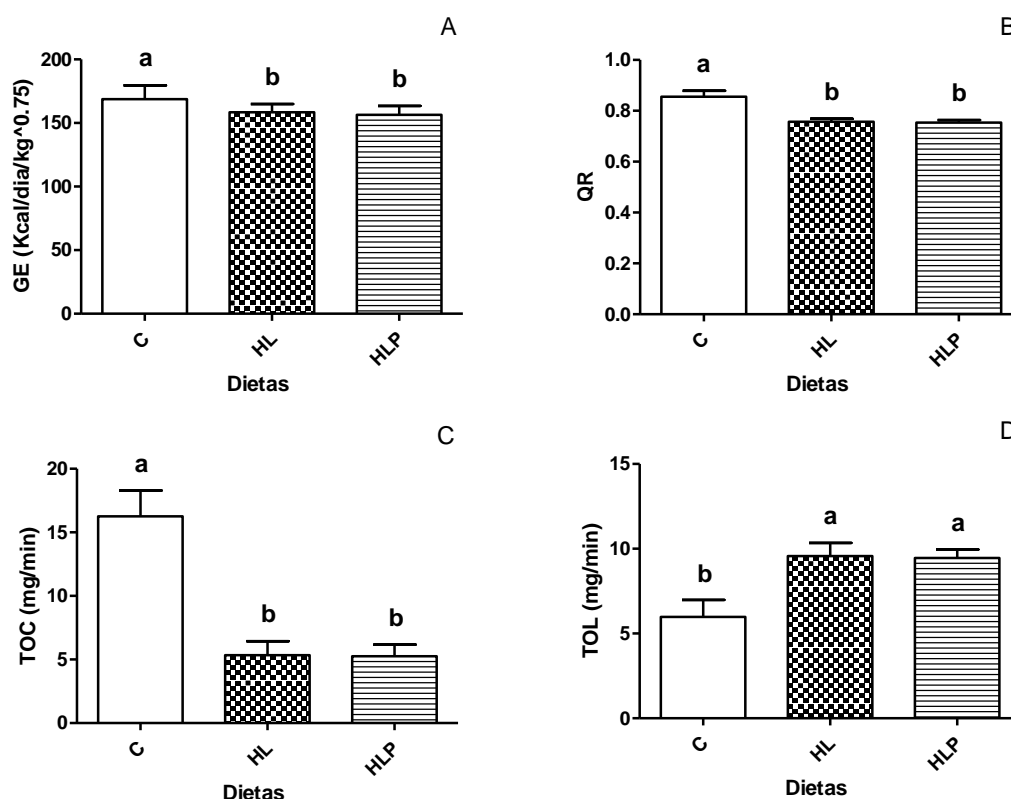
Órgãos	Grupos experimentais (n=9)		
	C	HL	HLP
Fígado (g)	1,67 ± 0,19 <sup>b</sup>	2,20 ± 0,39 <sup>a</sup>	2,06 ± 0,45 <sup>a</sup>
Fígado (%)	3,62 ± 0,60 <sup>a</sup>	3,82 ± 0,46 <sup>a</sup>	3,63 ± 0,65 <sup>a</sup>
Coração (g)	0,25 ± 0,04 <sup>a</sup>	0,24 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,25 ± 0,03 <sup>a</sup>
Coração (%)	0,43 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,41 ± 0,06 <sup>a</sup>	0,44 ± 0,05 <sup>a</sup>
Pâncreas (g)	0,43 ± 0,08 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,11 <sup>a</sup>	0,49 ± 0,10 <sup>a</sup>
Pâncreas (%)	0,92 ± 0,19 <sup>a</sup>	0,79 ± 0,18 <sup>a</sup>	0,87 ± 0,16 <sup>a</sup>

\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Valores expressos médias ± desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes (linha) diferem entre si (*One-way* ANOVA e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

### 6.2.2. Indicadores da termogênese

Em relação aos marcadores da termogênese, observamos que o gasto energético (GE) foi menor nos grupos HL (158,4±19,3) e HLP (156,4±19,5) quando comparados ao grupo C (168,7±30,3;  $p < 0,05$ ), não havendo efeito diferencial da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi (Figura 15A). O QR também foi igualmente menor para os grupos HL (0,76±0,03) e HLP (0,75±0,03) em comparação ao C (0,85±0,03;  $p < 0,05$ ; Figura 15B). A taxa de oxidação de carboidrato foi maior para o grupo C (16,2 ± 5,7), comparado aos grupos HL (5,3 ± 3,3) e HLP (5,2 ± 2,5), não havendo diferença entre ambos ( $p < 0,05$ ; Figura 14C). Em consonância, a taxa de oxidação de lipídeo foi igualmente maior para os grupos HL (9,5 ± 2,3) e HLP (9,4 ± 1,4) comparado com o grupo C (5,9 ± 2,8;  $p < 0,05$ ; Figura 15D).

Figura 15 – Taxa metabólica basal, quociente respiratório, taxa de oxidação de carboidrato e taxa de oxidação de lipídeo de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica contendo óleo de pequi.



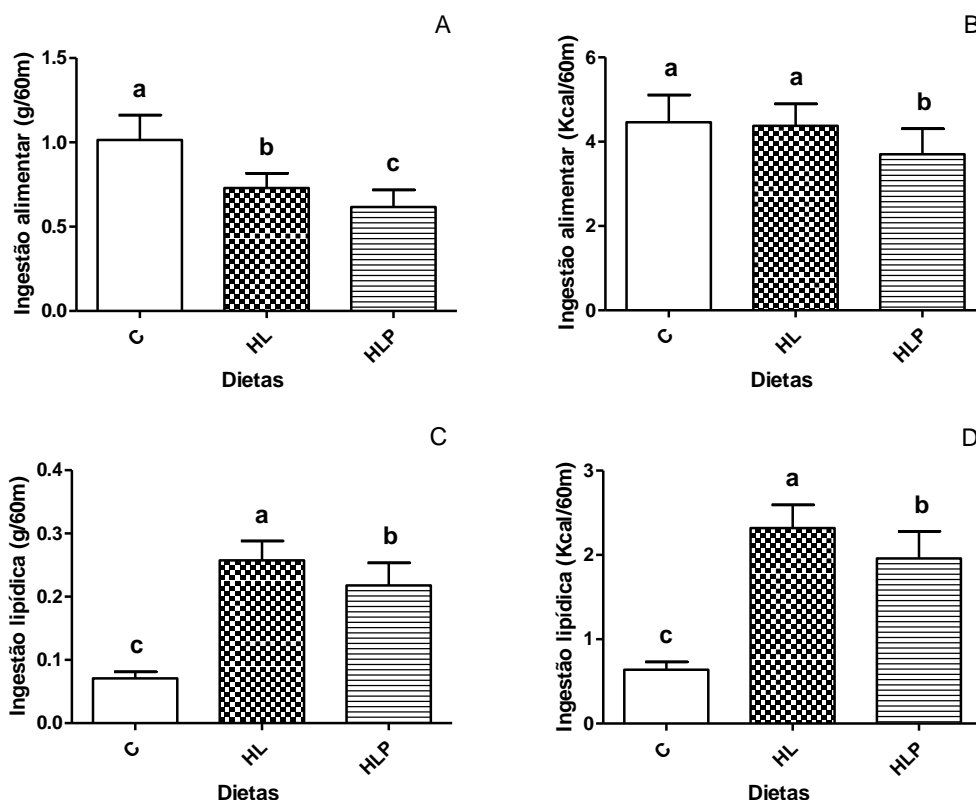
\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. GE = Gasto energético; QR = Quociente respiratório; TOC = Taxa de oxidação de carboidratos; TOL= Taxa de oxidação de lipídeos. Valores expressos em média  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way* ANOVA e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

### 6.2.3. Indicadores do comportamento alimentar

Ao analisarmos os indicadores do comportamento de saciedade, observamos que durante o teste de SCS, a substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi no grupo HLP promoveu a menor ingestão alimentar ( $0,62 \pm 0,29\text{g}/60\text{min}$ ) e calórica ( $3,70 \pm 1,71\text{kcal}/60\text{min}$ ) em comparação aos demais grupos ( $p < 0,05$ , Figura 16A e B). O grupo C ( $1,01 \pm 0,42\text{g}/60\text{min}$ ) ingeriu mais que o grupo HL ( $0,73 \pm 0,26\text{g}/60\text{min}$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 16A), mas não houve diferença entre esses grupos para a ingestão calórica (C =  $4,46 \pm 1,83\text{kcal}/60\text{min}$  e HL  $4,38 \pm 1,56$ ; Figura 16B).

A maior ingestão lipídica durante o teste foi a do grupo HL ( $0,258 \pm 0,09\text{g}/60\text{min}$ ), seguido pelo HLP ( $0,218 \pm 0,10\text{g}/60\text{min}$ ) e por último o grupo C ( $0,071 \pm 0,03\text{g}/60\text{min}$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 16C). O mesmo padrão foi observado para a ingestão calórica (HL= $2,32 \pm 0,83$  > HLP= $1,96 \pm 0,91$  > C= $0,64 \pm 0,26$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 16D).

Figura 16 – Ingestão alimentar, lipídica e calórica durante o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta balanceada ou suplementada com óleo de pequi

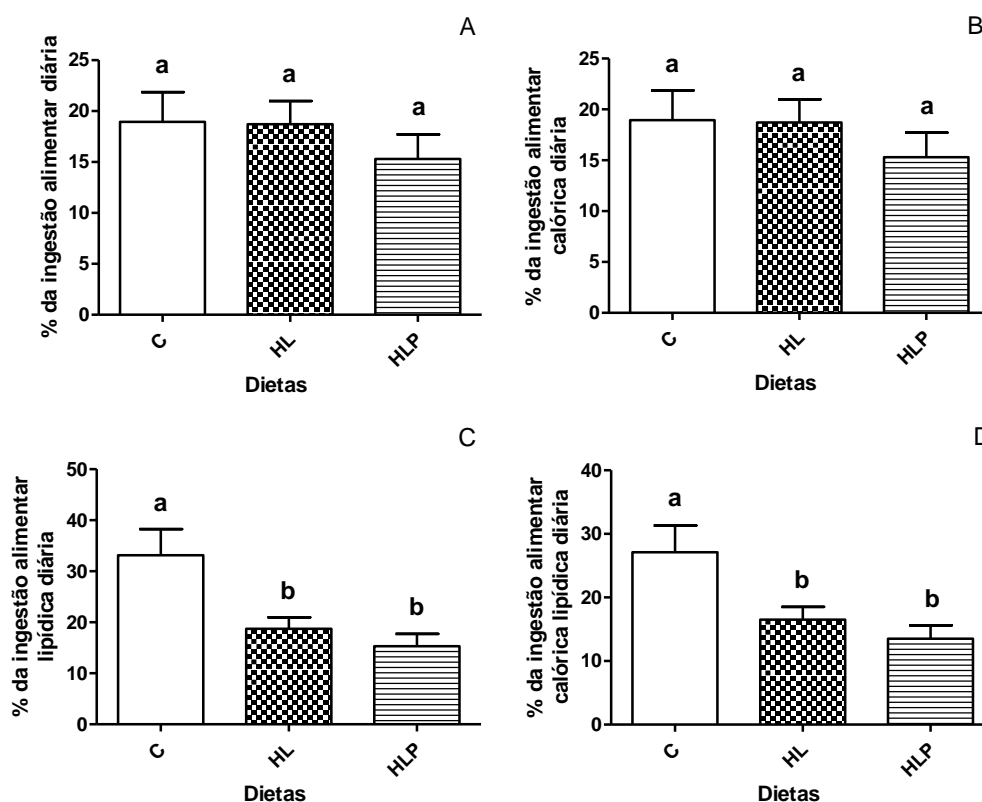


\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

Em relação ao percentual de ingestão alimentar diária durante o teste, não houve diferença entre os grupos experimentais (C =  $18,95 \pm 8,23$ ; HL =  $18,75 \pm 6,77$  e HLP =  $15,31 \pm 6,79$ %; Figura 17A). No entanto, mesmo não havendo diferenças significativas, as porcentagens da ingestão alimentar diária para o grupo HLP foram aproximadamente 23 e 22% inferiores às dos grupos C e HL, respectivamente. O mesmo padrão de resultado se repetiu para a porcentagem das calorias diárias ingeridas durante o teste (Figura 17B).

Em relação à porcentagem da ingestão lipídica diária, não houve diferença entre os grupos HL e HLP ( $18,75 \pm 6,77$  e  $15,31 \pm 6,79$ %, respectivamente) e ambos foram menores que o grupo C ( $33,16 \pm 14,41$ %;  $p < 0,05$ ; Figura 17C). Em consonância, o mesmo padrão de resposta foi observado para a porcentagem da ingestão calórica lipídica diária (Figura 17D).

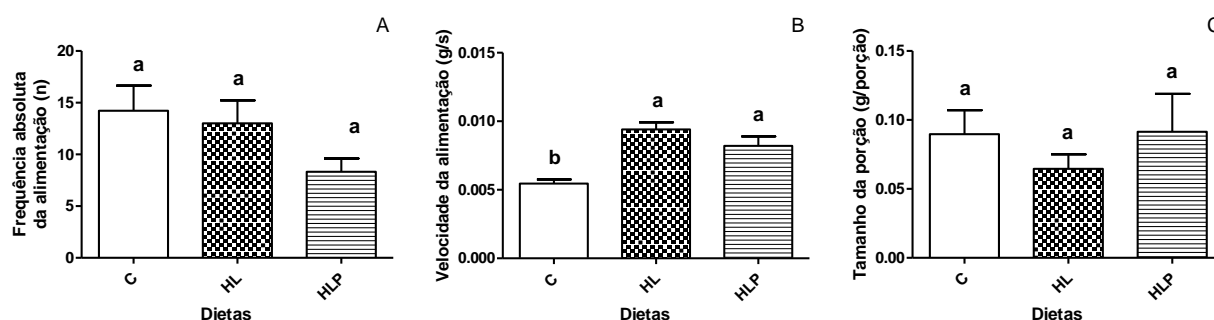
Figura 17 – Porcentagem da ingestão alimentar, lipídica e calórica diárias no teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica suplementada com óleo de pequi.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

A frequência da alimentação (número de vezes que o animal se alimentou ou número de “refeições”) não diferiu entre os grupos experimentais (C =  $14,20 \pm 6,89$ ; HL =  $13,00 \pm 6,65$  e HLP =  $8,33 \pm 3,59$ ; Figura 18A) apesar desta ter sido aproximadamente 41 e 36% menor para o grupo HLP em relação ao grupo C e HL, respectivamente. Adicionalmente, a velocidade da alimentação foi maior para os grupos experimentais HL e HLP (HL =  $0,0094 \pm 0,0015$  e HLP =  $0,0082 \pm 0,0019$ g/seg;  $p < 0,05$ , Figura 18B). Não foi detectada diferença no tamanho da porção entre os grupos experimentais (C =  $0,09 \pm 0,05$ ; HL =  $0,07 \pm 0,03$  e HLP =  $0,09 \pm 0,08$ ; Figura 18C), esse valor foi aproximadamente 40% menor para o grupo C em relação aos grupos hiperlipídicos.

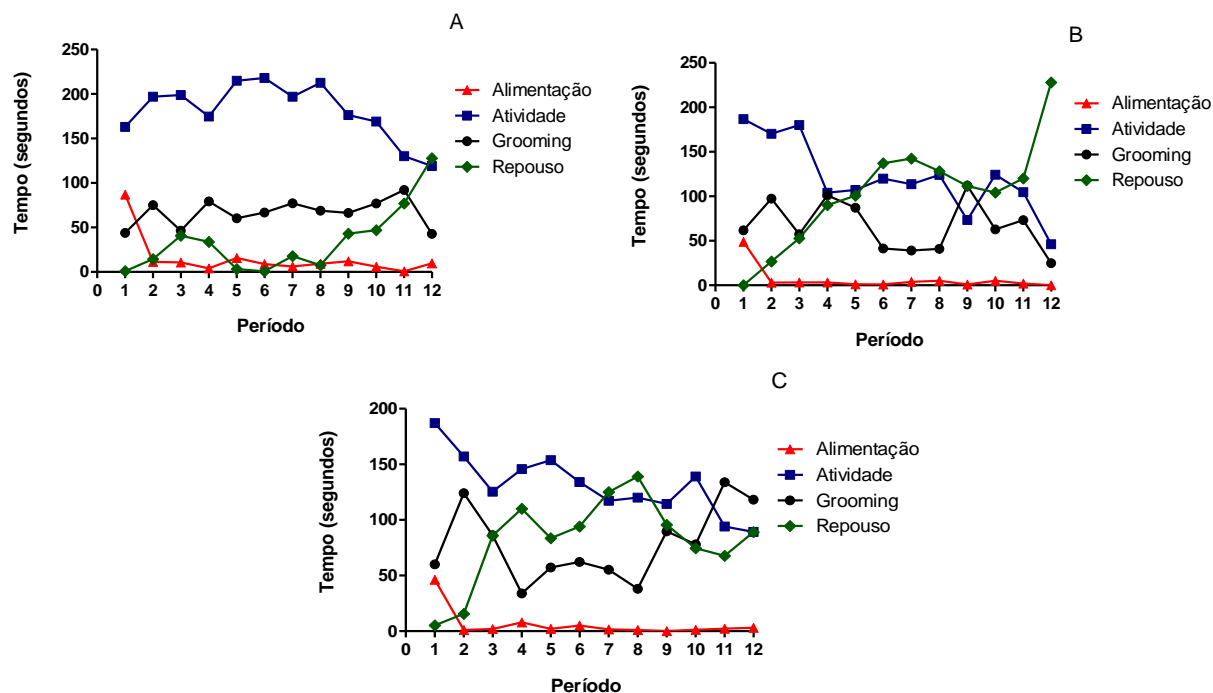
Figura 18 – Frequência da alimentação, velocidade da alimentação e tamanho de porção durante o teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e hiperlipídica contendo óleo de pequi.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

Na observação qualitativa da sequência comportamental da saciedade, a maior parte da alimentação dos animais dos grupos experimentais ocorreu nos primeiros 10 minutos de teste, após este período de tempo o comportamento alimentar se manteve semelhante para todos os grupos (C, HL e HLP). Notamos ainda que o tempo de atividade dos animais do grupo C foi maior do que o dos animais hiperlipídicos (HL e HLP) a partir dos 10 minutos de teste e manteve assim, até o fim do mesmo. Entretanto o decaimento no tempo de atividade do grupo HLP foi menos abrupto do que o observado no grupo HL, o que resultou em um maior tempo de atividade do grupo HLP em relação ao HL. Em relação ao tempo de repouso, o grupo C foi o que se manteve em menor tempo nessa condição, sendo este mais concentrado entre o 9º e 12º período de tempo (45 a 60 minutos de teste). Os grupos hiperlipídicos (tanto HL quanto HLP) apresentaram maior tempo de repouso em relação ao grupo C, contudo é interessante observarmos que entre o 5º e o 7º período de tempo (25 a 35 minutos de teste) ocorre uma ascensão nas curvas dos grupos HL e HLP, porém a partir do 8º período de tempo (40 minutos de teste) nota-se um declive nas curvas de ambos os grupos, sendo esse mais acentuado para o grupo HLP. Nota-se ainda que nos períodos finais do teste (11º e 12º; 55 e 60 minutos de teste) os animais de ambos os grupos hiperlipídicos entraram no seu maior intervalo de descanso, enfatizando que o grupo HL apresentou um pico muito maior do que o do grupo HLP. As variações de tempo com o comportamento de *grooming* foram similares entre os grupos (Figura 19)

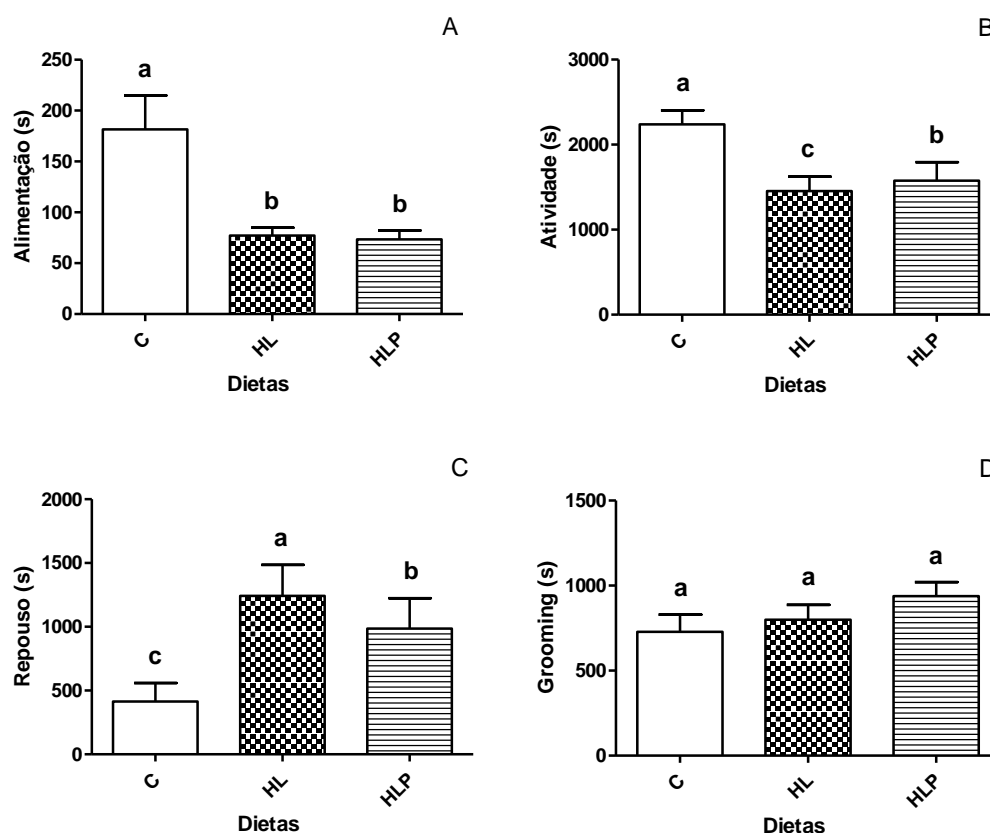
Figura 19 – Sequência comportamental da saciedade em períodos de 5 minutos de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e hiperlipídica contendo óleo de pequi.



(A) = Animais alimentados com dieta C - baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); (B) = Animais alimentados com dieta hiperlipídica (HL) baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc (HL); (C) = animais alimentados com dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco

Convergindo com os dados já apresentados o tempo de alimentação dos grupos HL e HLP não diferiram entre si ( $77,29 \pm 23,24$  e  $73,49 \pm 25,17$  respectivamente) mas foram menores do que do grupo C ( $181,56 \pm 94,25$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 20A). Já o tempo de atividade do grupo HL ( $1454,86 \pm 509,78$ ;  $p < 0,05$ ) foi o menor dentre os três, o grupo C apresentou maior tempo de atividade ( $2237,63 \pm 467,77$ ;  $p < 0,05$ ) e o grupo HLP tempo intermediário ( $1577,17 \pm 614,99$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 20B). O que condiz com o maior tempo de repouso do grupo HL ( $1242,14 \pm 728,68$ ;  $p < 0,05$ ) em relação ao grupo HLP ( $985,21 \pm 677,62$ ;  $p < 0,05$ ) e o menor tempo de repouso entre os três do grupo C ( $413,56 \pm 411,56$ ;  $p < 0,05$ ; Figura 20C). Já o *Grooming* não diferiu entres os grupos HL, HLP e C ( $799,29 \pm 264,76$ ;  $937,63 \pm 236,65$  e  $728,67 \pm 284,37$  respectivamente,  $p < 0,05$ ; Figura 20D)

Figura 20 – Tempo de alimentação, de atividade, repouso e *grooming* ao final do teste de sequência comportamental da saciedade de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica e hiperlipídica contendo óleo de pequi.



\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. s = segundos Barras expressam médias  $\pm$  desvio padrão. Barras acompanhadas por letras diferentes diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

#### 6.2.4. Biomarcadores imunometabólicos

As concentrações de glicose dos animais dos grupos HL e HLP não diferiram entre si, sendo significativamente maiores do que o encontrado para o grupo C ( $p < 0,05$ ; Tabela 5). Para as de adiponectina, o inverso foi observado. O grupo C apresentou maiores concentrações quando comparado aos grupos HL e HLP ( $p < 0,05$ ; Tabela 5). Os maiores valores de PCR foram os do grupo HL, seguidos pelos do HLP e por último, os do C ( $p < 0,05$ , Tabela 5).

A IL12p70 foi igualmente maior nos grupos HL e HLP em comparação ao C ( $p < 0,05$ , Tabela 5). Entretanto, é importante observar que, apesar de não ter sido detectada diferença significativa, os valores desta citocina para o grupo HLP foram aproximadamente 20% inferiores aos do grupo HL. Observou-se também que as maiores concentrações de IFN- $\gamma$  foram as do grupo



HL, seguidas pelas do grupo HLP e por último do grupo C ( $p < 0,05$ ; Tabela 5). Não houve diferença entre os grupos experimentais para o TNF e para a MCP-1 (Tabela 5).

Tabela 5 – Biomarcadores imuno-metabólicos séricos de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica ou hiperlipídica contendo óleo de pequi.

Biomarcadores	Grupos experimentais (n=7)		
	C	HL	HLP
Glicemia (mg/dL)	$121,88 \pm 18,95^b$	$158,00 \pm 30,01^a$	$156,88 \pm 25,59^a$
Adiponectina. (ng/mg proteína)	$92,16 \pm 10,16^a$	$40,06 \pm 11,02^b$	$48,18 \pm 14,13^b$
PCR (ng/mg proteína)	$54,60 \pm 7,89^c$	$80,96 \pm 17,66^a$	$69,78 \pm 19,77^b$
IL12p70 (pg/mL)	$3,80 \pm 1,23^c$	$8,07 \pm 1,54^a$	$6,29 \pm 1,30^b$
TNF (pg/mL)	$3,69 \pm 1,20^a$	$4,49 \pm 0,61^a$	$3,95 \pm 1,06^a$
IFN- $\gamma$ (pg/mL)	$0,27 \pm 0,22^c$	$0,84 \pm 0,22^a$	$0,55 \pm 0,15^b$
MCP-1 (pg/mL)	$20,73 \pm 1,50^a$	$22,80 \pm 3,45^a$	$23,49 \pm 5,41^a$

\*C= Dieta baseada nas recomendações do *American Institute of Nutrition* (AIN93G) (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993); HL = dieta hiperlipídica baseada na fórmula D12492 da Research Diets Inc; Dieta HLP = dieta HL acrescida de óleo de pequi (HLP) na proporção de 60 g/kg em substituição ao óleo de soja e banha de porco. Valores expressos como médias  $\pm$  desvio padrão. Médias seguidas por letras diferentes (linha) diferem entre si (*One-way ANOVA* e teste Tukey;  $p < 0,05$ ).

## 6 DISCUSSÃO

Este estudo teve como questão primária a investigação dos efeitos da ingestão do óleo de pequi em indicadores do balanço energético e em biomarcadores imunometabólicos de camundongos alimentados com dietas balanceada e hiperlipídica. Para tal, realizamos um ensaio biológico no qual o óleo de pequi foi introduzido na dieta balanceada (C) em substituição parcial ao óleo de soja e na hiperlipídica, em substituição parcial ao óleo de soja e banha de porco.

De maneira geral, a substituição parcial do óleo de soja por óleo de pequi em uma dieta balanceada, na proporção de aproximadamente 1% das calorias diárias não promoveu alterações nos indicadores antropométricos, de adiposidade e na termogênese. De outro modo, houve elevação na concentração da IL12p70 e redução na concentração de adiponectina. Além disso, na avaliação do comportamento, os principais achados apontaram um maior tempo de comportamento ingestivo em contraste ao não ingestivo para o grupo CP, com maior tempo e frequência de alimentação, com porções menores e período ativo menor para este grupo.

Inicialmente, é importante ressaltar que, ao combinarmos o óleo de pequi com o óleo de soja, promovemos alteração na composição lipídica da dieta CP. Especificamente, alteramos a relação entre os ácidos graxos. De acordo com estimativas feitas por meio de tabela de composição química e dados do nosso grupo, o óleo de soja, na quantidade utilizada na dieta C apresenta uma razão SFA/PUFA de 0,25 e de SFA/MUFA de 0,65 (TACO, 2011). Ao combinarmos o óleo de pequi com o óleo de soja nas quantidades preconizadas (dieta CP), a razão SFA/PUFA passou para 1,28 e de SFA/MUFA para 0,68 (TACO, 2011; OLIVEIRA et al., 2017). Isso demonstra que a principal modificação promovida foi na razão SFA/PUFA. Ao combinarmos óleo de pequi com óleo de soja, aumentamos de maneira mais expressiva, o aporte de SFA, o que aumentou em aproximadamente cinco vezes a quantidade destes ácidos graxos relação à dos PUFA, já que o óleo de pequi apresenta quantidade muito pequena destes últimos e os saturados estão presentes em maior quantidade. Assim, apesar de a quantidade total de lipídeos da dieta CP ter permanecido a mesma da C, esta modificação pode ter contribuído para as respostas alteradas nas concentrações de adiponectina e IL12p70.

Tem sido apontado na literatura que quantidade elevada de SFA em relação a PUFA pode promover elevações no conteúdo lipídico dos adipócitos, mesmo sem desenvolver a obesidade e que os adipócitos viscerais são mais propensos (FRITSCHKE, 2015). Em humanos, é relativamente comum encontrarmos indivíduos eutróficos, mas que apresentam algum excesso de gordura na região visceral (MADDALONI et al., 2016). Desta forma, pode haver algum impacto na adiponectina circulante e no estado inflamatório devido à maior de triglicerídeos nos

adipócitos viscerais. Entretanto, não verificamos maior adiposidade nos animais do grupo CP. Assim, inferimos que a quantidade de SFA aumentada em razão da inclusão do óleo de pequi possa ter impactado em reduzir levemente a adiponectina e a aumentar a IL12p70, mas não necessariamente isto esteja associado a excesso de gordura visceral.

Em adipócitos humanos (3T3-L1), a administração de ácido palmítico em concentração de 500  $\mu$ M reduziu a secreção de adiponectina porque induziu estresse do retículo endoplasmático (MONDAL et al., 2012). Adicionalmente, LEE et al. (2001) foram os primeiros a demonstrar que administração de SFA livres em cultura de adipócitos foi capaz de estimular diretamente a expressão de genes pró-inflamatórios por meio do receptor tipo *toll-like 4* (TLR4). Este receptor, quando ativado, estimula a via do Fator Nuclear *kappa-B* (NFk-B), a qual, induz a expressão de diversas citocinas pró-inflamatórias (TAK e FIRESTEIN, 2001; GHOSH et al., 2012).

Em relação ao comportamento alimentar, apesar de o grupo CP ter apresentado variáveis do comportamento ingestivo superiores ao C, não houve diferenças entre os grupos para as porcentagens da ingestão diária, seja em quantidade de alimento, de lipídios ou calorias. Então, apesar de os MUFA serem apontados como envolvidos na saciedade, e estando em uma proporção de cerca de 2 vezes maior na dieta CP (31,7g/kg contra 16,3g/kg da dieta C) não observamos impactos significativos na ingestão total em comparação ao C.

Diante desses achados, nosso próximo passo foi investigar se a substituição parcial do conteúdo lipídico de uma dieta hiperlipídica (HL) por óleo de pequi (HLP) nas mesmas proporções, promoveria efeitos similares ou diferentes aos já observados em um contexto de dieta balanceada.

Assim, quando a substituição do conteúdo lipídico por óleo de pequi foi feita em uma dieta hiperlipídica (dieta HLP), houve ligeira redução na deposição visceral de gordura, o que poder ter contribuído para a redução das concentrações circulantes de IL12p70 e IFN- $\gamma$  e da PCR em relação ao grupo HL. As respostas na termogênese não foram impactadas pela inclusão do óleo de pequi, prevalecendo efeitos compatíveis com a sobrecarga lipídica em ambas as dietas HL e HLP. Já para o comportamento alimentar, a estratégia dietética de adição do óleo de pequi, provocou algumas respostas diferenciais. Quantitativamente, durante o teste de SCS, os animais HLP comeram menos dieta e, portanto, menos calorias que os HL, embora isso não tenha promovido efeito diferencial na ingestão diária (absoluta e calórica). Além disso, os animais HLP comeram menos vezes, gastaram menos tempo comendo, repousaram menos e ficaram mais ativos durante o teste da SCS. É importante ressaltar que esses achados, quase na sua totalidade, são comparativos aos animais alimentados com dieta HL e que, também quase na sua totalidade, não se igualaram aos animais C.

Ao interpretarmos os resultados obtidos, inicialmente observamos que ambos os grupos HL e HLP tornaram-se obesos. A ingestão calórica foi similar entre os três grupos, embora a ingestão alimentar tenha sido maior para o grupo C em relação aos grupos HL e HLP. De acordo com Patterson & Levin (2008), roedores tendem a ingerir quantidade de alimento de acordo com suas necessidades energéticas. As dietas HL e HLP eram isoenergéticas entre si, mas com maior densidade calórica que a C, o que, possivelmente, levou à menor ingestão absoluta desses grupos.

Está amplamente descrito na literatura efeitos obesogênicos de dietas com sobrecarga lipídica em modelos animais (NILSSON et al., 2012; ROSINI; SILVA; MORAIS, 2012; ENOS; VELÁZQUEZ; MURPHY, 2014; PEREIRA et al., 2018), sendo a banha de porco a mais utilizada como fonte lipídica nessas dietas, já que os SFA são predominantes nesta fonte dietética (WHITE et al., 2013).

Assim, os animais desses dois grupos (HL e HLP) ingeriram mais lipídeos e, portanto, houve maior sobrecarga de calorias advindas de lipídeos quando comparados aos C. Isso refletiu em maiores massas corporais, IL e IAdip para esses animais. Os maiores CEE também reforçam estes achados. Enos, Velázquez e Murphy (2014) observaram que camundongos alimentados com dieta hiperlipídica foram mais eficientes na transformação de calorias em massa corporal, tornando-se obesos e resistentes à insulina. De acordo com Hu et al. (2018) a incorporação de lipídeos da dieta em gordura corporal no tecido adiposo, especialmente no visceral, demanda menos energia quando comparada a carboidratos ou proteínas, o que favorece o aumento do acúmulo de massa adiposa. Além disso, a perda fecal de energia advinda da gordura dietética é menor quando a razão gordura/carboidrato dietética é alta (ASTRUP, 2001), como foi o caso das dietas HL e HLP. Então, a elevada ingestão de gordura em longo prazo é capaz de romper a homeostase energética, favorecendo o aumento da massa corporal/adiposa e provocando distúrbios imunometabólicos relacionados (WOODS et al., 2003).

Outro fator que pode ter impactado expressivamente foi a sobrecarga de SFA advinda da banha de porco nas dietas HL e HLP. De acordo com Buettner et al. (2006), a obesidade é induzida de maneira mais eficiente (menor tempo) quando os SFA prevalecem na fonte lipídica, já que esses ácidos graxos são considerados mais lipogênicos do que os MUFA ou PUFA. Existem várias hipóteses que suportam esta teoria. Por exemplo, Matsuo e Suzuki (1994) sugeriram que uma sobrecarga na ingestão de SFA reduz a afinidade da lipase hormônio-sensível aos triglicerídeos de reserva, contribuindo para o aumento do seu conteúdo nos adipócitos. Takeuchi et al. (1995) por outro lado, observaram que a maior ingestão de SFA por

camundongos reduziu a atividade da carnitina palmitoil-transferase (CPT), promovendo menor entrada e taxa de oxidação mitocondrial do ácido palmítico.

No entanto, é importante chamar a atenção para o fato de que a adiposidade visceral foi reduzida no grupo HLP em relação ao HL, indicando efeito diferencial, provavelmente causado pela substituição de parte do seu conteúdo lipídico por óleo de pequi. Alguns trabalhos prévios do nosso grupo vêm mostrando efeito similar do óleo ou polpa de pequi, quando incluídos nas dietas em substituição parcial aos seus conteúdos lipídicos, tanto em roedores saudáveis quanto alimentados com dieta hiperlipídica e rica em sacarose (OLIVEIRA et al., 2017; CÉSAR et al., 2017; MORENO et al., 2016; CÉSAR et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2013). Apesar de não ter se igualado aos animais controles, este é um resultado importante, já que o acúmulo de gordura na região visceral, é mais correlacionado com disfunções metabólicas, incluindo desordens inflamatórias, resistência à insulina e diabetes, quando comparado a outras regiões (DINH et al., 2015).

À princípio, nós inferimos que o aumento do aporte de MUFA pode ter sido responsável, pelo menos em parte, por este efeito. Os ácidos graxos predominantes no óleo de pequi são MUFA (58,49 g.100g<sup>1</sup>), especialmente ácido oleico (57,42g.100g<sup>1</sup>) (OLIVEIRA et al., 2017). De acordo com Paniagua et al. (2007), dietas ricas em MUFA estão associadas com uma menor deposição de gordura na região visceral. Dentre as hipóteses mais recentes, destacam-se os efeitos no metabolismo lipídico da oleiletanolamida (OEA), metabólito sintetizado de forma endógena a partir do ácido oleico (SIHAG e JONES, 2018). Bowen et al. (2017) afirmam que o aumento da ingestão de ácido oleico eleva as concentrações circulantes de OEA porque aumenta a disponibilidade de substrato para sua síntese.

A OEA, como um sinalizador lipídico exerce seus efeitos biológicos, primariamente através da ativação direta do *peroxisome proliferator-activated receptor alpha* (PPAR- $\alpha$ ) e é um agonista endógeno de alta afinidade para este fator. A ativação do PPAR- $\alpha$  pela OEA e a transcrição de genes regulados por esse fator inicia uma cascata de eventos que, em última instância, influencia mecanismos da saciedade e do metabolismo lipídico (FU et al., 2003).

FU et al. (2005) mostraram que a OEA reduziu as concentrações séricas de lipídios e a acumulação de lipídeos hepáticos em ratos obesos, através da ativação direta do PPAR- $\alpha$ . Esses autores também mostraram que a OEA diminuiu a expressão da proteína FAT/CD36, principal transportador de ácidos graxos através de membranas. De fato, THABUIS et al. (2005) postularam que a expressão da proteína FAT/CD36 seria o bioindicador mais relevante da ação da OEA em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, sendo a redução da sua expressão associada à menor adiposidade desses camundongos.

Além disso, o óleo de pequi também é rico em diversos compostos bioativos, dos quais destacam-se os carotenoides (328-420 mg/kg) (OLIVEIRA et al., 2017; TORRES et al., 2016). Entre os carotenoides presentes no óleo de pequi estão a anteraxantina, a zeaxantina, a violaxantina, a luteína, o  $\beta$ -caroteno, o licopeno, a criptoflavina, a  $\beta$ -criptoxantina e a neoxantina (AZEVEDO-MELEIRO; RODRIGUEZ-AMAYA, 2004; LIMA et al., 2007; PALMEIRA et al., 2015). Diversos estudos demonstraram ação anti-adiposidade e antiinflamatória de carotenoides e derivados de carotenoides na obesidade (BONET et al., 2015; HOSOKAWA et al., 2010; RIBOT et al., 2001).

Os possíveis mecanismos ainda carecem de esclarecimentos. De acordo com vários autores, diversos carotenoides têm capacidade de aumentar a excreção fecal de gordura, inibir a atividade da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase (HMG), uma enzima limitante da biossíntese do colesterol, e ativar a lipase lipoproteica (LLP), uma enzima relacionada à hidrólise de triglicerídeos de lipoproteínas (AGUILAR et al., 2011; AGUILAR et al., 2012; FIGUEIREDO et al., 2016). Além disso, carotenoides podem atuar na defesa contra danos oxidativos, o que contribui para melhorar o metabolismo dos adipócitos (CERQUEIRA et al., 2007).

De todo modo, vale ressaltar que o acúmulo de gordura na região visceral foi apenas atenuado. Nos inferimos que, apesar do maior aporte de MUFA e compostos bioativos ainda prevaleceu efeitos da sobrecarga lipídica e de SFA, as quais foram ainda muito próximas entre as dietas HL e HLP (147,7g/kg na HL e 146,6g/kg na HLP). Além disso, as mudanças na razão SFA/PUFA e SFA/MUFA ainda permaneceram muito distantes da dieta C. Conforme apresentado anteriormente, a razão SFA/PUFA da dieta C foi de 0,25 e a de SFA/MUFA, de 0,65 (TACO, 2011). Na dieta HL, a razão SFA/PUFA passou para 1,7 e a de SFA/MUFA para 1,3. Ao combinarmos o óleo de pequi, encontramos a razão SFA/PUFA de 2,0 e a de SFA/MUFA de 1,1 (TACO, 2011; OLIVEIRA et al., 2017; AZIR et al., 2017).

Como houve redução na adiposidade visceral em razão da ingestão da dieta HLP, nós também investigamos se marcadores imuno-metabólicos relacionados teriam sido impactados. Curiosamente, houve elevação da concentração de adiponectina e concomitante redução de IL12p70, IFN- $\gamma$  e PCR nos animais HLP em relação aos HL, sem se igualar aos C. Estes também são resultados importantes, já que qualquer atenuação no processo inflamatório subjacente à obesidade pode contribuir para a melhora metabólica do adipócito e com isso, pode também retardar o desenvolvimento de distúrbios associados.

Conforme apresentado anteriormente, a adiponectina é uma adipocinas produzida principalmente pelos adipócitos e suas concentrações circulantes, em condições fisiológicas, são

consideradas altas. Esta adipocinas exerce efeitos antiinflamatórios, anti-aterogênicos e melhora a sensibilidade a insulina (OKAMOTO et al., 2008).

Está bastante discutido que a hipertrofia dos adipócitos na obesidade (acúmulo de gordura) reduz a secreção de adiponectina e consequentemente seus efeitos locais e sistêmicos antiinflamatórios (OHASHI et al., 2010). Assim, a menor adiposidade visceral pode ter sido determinante da sua elevação no grupo HLP em relação ao HL e pode justificar, pelo menos em parte, as reduções nas concentrações de IL12p70 e IFN- $\gamma$ , já que pode ter contribuído para a redução da secreção dessas citocinas com concomitante redução das suas concentrações circulantes. Um dos efeitos da elevação da adiponectina, diretamente em macrófagos do tecido adiposo, é suprimir a secreção de IFN- $\gamma$  (WOLF et al., 2004; YAMAGUCHI et al., 2005).

O tecido adiposo hipertrofiado na obesidade também induz a um aumento precoce da secreção da IL12p70 pelos adipócitos o que conduz a uma proliferação e acumulação de células linfoides inatas do tipo 1 que se diferenciam especialmente em células NK, as quais produzem IFN- $\gamma$  que por sua vez, é capaz de induzir a polarização pró-inflamatória de macrófagos. Macrófagos com polarização pró-inflamatória secretam diversas citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6 e o TNF- $\alpha$  (O'SULLIVAN et al., 2016). Assim, em nosso estudo a redução da adiposidade pode ter contribuído para a redução da IL12p70 e esta, por sua vez, para a redução do IFN- $\gamma$ .

Não foi possível avaliar a concentração circulante de IL-6, uma das principais citocinas pró-inflamatórias da obesidade. No entanto, podemos inferir que ela possa ter reduzido, da mesma forma que a IL12p70 e o IFN- $\gamma$  no grupo HLP em relação ao HL. O fato é que, a secreção hepática de PCR, a qual é responsável pela maior parte da PCR circulante, é estimulada principalmente pela IL-6 (RIDKER, 2003). Nós também observamos redução da PCR circulante no grupo HLP em relação ao grupo HL. Essa proteína foi avaliada porque é considerada um marcador da inflamação associada à obesidade (CASTELL et al., 1990). Além disso, a elevação da adiponectina também é capaz de reduzir a IL-6 (BIANCHI, 2018).

Assim, diante da perspectiva de o óleo de pequi interferir no desenvolvimento da obesidade, e do fato de a dieta HLP ter promovido respostas positivas na adiposidade e em alguns biomarcadores imunes, nosso próximo passo foi investigar se havia envolvimento de indicadores da termogênese e, ou do comportamento alimentar nos desfechos observados.

Não foi possível observar nenhum efeito diferencial promovido pela inclusão do óleo de pequi na dieta HLP em comparação à dieta HL ou C nos indicadores da termogênese avaliados. Em razão do maior aporte de MUFA em adição aos compostos antioxidantes (carotenoides, principalmente) na dieta HLP, nós esperávamos, pelo menos, que houvesse aumento na TMB

com concomitante menor QR e maior taxa de oxidação de lipídeos nesses animais, pelo menos em comparação aos HL. Isso porque recentemente, tem sido relatado o maior poder termogênico de MUFA em relação a outros ácidos graxos. Sihag e Jones (2018), por exemplo, apontaram que o aumento da proporção de MUFA ricos em ácido oleico em lugar de SFA na dieta de humanos aumentou a taxa de oxidação de lipídeos. Ainda, Kien, Bunn e Ugrasbul (2015) demonstraram também maiores taxas de oxidação de lipídeos em humanos alimentados com dieta rica em MUFA, quando comparados com outros alimentados com dieta rica em SFA.

Além disso e conforme comentado anteriormente, a maior ingestão de ácido oleico leva a uma maior produção endógena de OEA, o que poderia ter sido impactante na oxidação de lipídeos. De acordo com Sihag e Jones (2018), a OEA é capaz de ativar o PPAR- $\alpha$ , o que, dentre diversos efeitos no metabolismo lipídico, promove aumento nas taxas de oxidação de lipídeos, aumenta o gasto energético, contribuindo para a redução da gordura e do peso corporal. Em estudos anteriores do nosso grupo, já havíamos observado redução da adiposidade visceral em ratos, em razão da ingestão do óleo ou polpa de pequi (OLIVEIRA et al., 2017; CÉSAR et al., 2017; MORENO et al., 2016; CÉSAR et al., 2015; TEIXEIRA et al., 2013), o que também contribuiu para justificar nossa expectativa.

Assim, inferimos que é também provável que efeitos da sobrecarga lipídica e de SFA na dieta HLP ainda tenham prevalecido em comparação às mudanças dietéticas qualitativas, nos resultados observados para a termogênese. Algumas hipóteses suportam nossa inferência. Por exemplo, Hill, Melanson e Wyatt (2000) sugerem que o balanço lipídico é o fator mais determinante das taxas de oxidação lipídica. Para esses autores, a taxa de mudança nos estoques de gordura corporal é fruto da diferença entre a taxa de ingestão de lipídeos e a taxa de oxidação de lipídeos, a qual difere conforme a quantidade e composição dos ácidos graxos ingeridos, sendo os saturados mais lipogênicos do que lipolíticos. Alguns autores explicam que um balanço energético positivo é também resultado da maior ingestão de lipídeos com concomitante redução dos estoques de glicogênio. Então, balanço energético, nesse caso, seria sinônimo de balanço lipídico (SALMON; FLATT, 1985). Adicionalmente, Pant, Staracet e Greenef. (1994) afirmam que a maior ingestão de SFA afeta a função da bomba de Na/K e reduz o transporte de elétrons na membrana mitocondrial, o que leva a uma redução da taxa metabólica basal, contribuindo para o acúmulo de triglicerídeos no TAB.

Tem também sido demonstrado que a biogênese mitocondrial e a termogênese ficam reduzidas no TAB de roedores e humanos obesos (FLACHS et al., 2013; VALERIO et al., 2006; BOTTCHE; FURST, 1997), enquanto que a indução da ativação da oxidação mitocondrial de ácidos graxos tem sido observada em condições de perda de adiposidade (FLACHS et al., 2013).



Kusminski e Scherer (2012) relatam que no estado obeso, as mitocôndrias do TAB não conseguem lidar com demandas aumentadas para a oxidação de ácidos graxos, resultando em incompleta  $\beta$ -oxidação. De fato, Choi et al. (2015) demonstraram que camundongos alimentados com dieta hiperlipídica por 17 semanas sub-regularam genes envolvidos no catabolismo e oxidação de ácidos graxos, bem como genes que controlam vias mitocondriais de transferência de energia, incluindo ciclo de Krebs e fosforilação oxidativa em TAB.

Assim, é provável que a inclusão ingestão do óleo de pequi na dieta HLP tenha, de fato, exercido algum efeito protetor na deposição lipídica visceral, mas é também provável que a sobrecarga lipídica associada a um maior aporte de SFA tenham sido os maiores determinantes dos desfechos observados nos marcadores da termogênese.

Em relação ao comportamento alimentar, a inclusão do óleo de pequi parece ter promovido maior saciedade. Apesar de o grupo HLP ter apresentado variáveis do comportamento ingestivo diferentes as do grupo HL, o mesmo não se igualou ao grupo C. Contudo houve diferenças entre os grupos HL e HLP para a ingestão alimentar, seja em quantidade de alimento, de lipídios ou calorias durante o teste. Observamos que os animais do grupo HLP apresentaram um comportamento que tende para a redução da ingestão e aumento do tempo de atividade, porém quando analisamos a representação diária dessa redução na ingestão total, não nota-se diferença entre os grupos HL e HLP. Isso pode ser confirmado através dos dados da evolução massa corporal realizado ao longo do experimento, da ingestão alimentar (gramas e calorias) e do GE que não diferiram entre os grupos hiperlipídicos mesmo com a substituição parcial do conteúdo lipídico da dieta HL, por óleo de pequi, o que poderia ser justificado pela sobrecarga lipídica dessas dietas. Já foi descrito que alimentos gordurosos se apresentam mais atraentes ao paladar, quando comparados com aqueles de menor conteúdo lipídico, independente de sua qualidade (Galli, 2015).

## 7 RESUMO DOS PRINCIPAIS RESULTADOS E CONCLUSÕES

O protocolo experimental utilizado neste estudo possibilitou algumas inferências sobre efeitos biológicos advindos da ingestão do óleo de pequi, tanto em um contexto de dieta balanceada, quanto em um contexto de dieta hiperlipídica, em processos relacionados à patogênese da obesidade. Na Tabela 6, apresentamos os principais achados desta investigação.

Tabela 6 – Resumo dos principais resultados

Objetivos específicos	Intervenção	
	Dieta balanceada (C x CP)	Dieta hiperlipídica (C x HL x HLP)
<b>1. Ingestão alimentar, antropometria e adiposidade</b>		
▪ Ingestão alimentar (g/dia)	CP = C	(HL = HLP) < C
▪ Ingestão calórica (Kcal/dia)	CP = C	HLL = HLP = C
▪ Ganho de massa corporal (g)	CP = C	(HL = HLP) > C
▪ Índice de adiposidade (g)	CP = C	HL > HLP > C
▪ Coeficiente de eficiência energética (%)	CP = C	(HL = HLP) > C
<b>2. Indicadores da termogênese</b>		
▪ Gasto energético (Kcal/dia)	C = CP	(HL = HLP) < C
▪ Quociente respiratório	C = CP	(HL = HLP) < C
▪ Taxa de oxidação de carboidrato (mg/min)	C = CP	(HL = HLP) < C
▪ Taxa de oxidação de lipídeo (mg/min)	C = CP	(HL = HLP) > C

Cont. Tabela 6

Objetivos específicos	Intervenção	
	Dieta balanceada (C x CP)	Dieta hiperlipídica (C x HL x HLP)
<b>3. Indicadores do comportamento alimentar</b>		
▪ % da ingestão diária	C = CP	HL = HLP = C
▪ % da ingestão calórica diária	C = CP	HL = HLP = C
▪ Frequência da alimentação (n)	C < CP	HL = HLP = C
▪ Velocidade da alimentação (g/s)	C = CP	(HL = HLP) > C
▪ Tamanho da porção (g)	C = CP	HL = HLP = C
▪ Alimentação (s)	C < CP	(HL = HLP) < C
▪ Atividade (s)	C > CP	HLP > HL < C
▪ Repouso (s)	C < CP	HL > HLP > C
▪ Grooming (s)	C = CP	HL = HLP = C
<b>4. Indicadores imuno-metabólicos</b>		
▪ Glicemia (mg/dL)	C = CP	(HL=HLP) > C
▪ Adiponectina (ng/mg proteína)	C > CP	(HL=HLP) < C
▪ Proteína C reativa (ng/mg proteína)	C = CP	HL > HLP > C
▪ IL12p70 (pg/mL)	C < CP	HL > HLP > C
▪ TNF (pg/mL)	C = CP	HL = HLP = C
▪ IFN- $\gamma$ (pg/mL)	C = CP	HL > HLP > C
▪ MCP-1 (pg/mL)	C = CP	HL = HLP = C

Diante dos achados podemos inferir duas conclusões:

- 1) A substituição de parte do conteúdo lipídico de uma dieta balanceada por óleo de pequi não alterou respostas em indicadores da adiposidade, da ingestão alimentar e da termogênese, mas os animais tenderam a apresentar maior tempo de comportamento ingestivo e tiveram pequenas alterações em biomarcadores pró-inflamatórios.
- 2) A substituição de parte do óleo de soja e da banha de porco por óleo de pequi em uma dieta hiperlipídica não afetou a termogênese, mas promoveu menor acúmulo de gordura visceral com melhorias no perfil pró-inflamatório, o que pode ter contribuído para o comportamento mais ativo desses animais e para a tendência de menor ingestão alimentar

## 8 REFERÊNCIAS

- AGUILAR, E. C. *et al.* **Paradoxical effect of a pequi oil-rich diet on the development of atherosclerosis: balance between antioxidant and hyperlipidemic properties.** Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v. 45, n. 7, p. 601-609, 2012.
- AGUILAR, E. C. *et al.* **Serum lipid profile and hepatic evaluation in mice fed diet containing pequi nut or pulp (Caryocar brasiliense Camb.).** Food Science and Technology, v. 31, n.4, p. 879–883, 2011.
- AGUILAR, E.C. *et al.* **Paradoxical effect of a pequi oil-rich diet on the development of atherosclerosis: balance between antioxidant and hyperlipidemic properties.** Braz. J. Med. Biol. v. 45, n. 7, p. 601–609, 2012.
- ALIPOURFARD, I.; DATUKISHVILI, N.; MIKELADZE, D. **TNF- $\alpha$  Downregulation Modifies Insulin Receptor Substrate 1 (IRS-1) in Metabolic Signaling of Diabetic Insulin-Resistant Hepatocytes.** Mediators of Inflammation, p.1-6, 2019.
- ALMEIDA, S. P. *et al.* **Cerrado: espécies vegetais úteis.** Planaltina: Embrapa-CPAC, p. 464, 1998.
- AMARAL, L. F.; *et al.* **Caryocar brasiliense supercritical CO<sub>2</sub> extract possesses antimicrobial and antioxidant properties useful for personal care products.** BMC complementary and alternative medicine, v. 14, n. 1, p. 73, 2014.
- ARKAN, M. C. *et al.* **IKK-[beta] links inflammation to obesity-induced insulin resistance.** Nature medicine, v. 11, n. 2, p. 191, 2005.
- ASTRUP, A. **The role of dietary fat in the prevention and treatment of obesity. Efficacy and safety of low-fat diets.** International Journal of Obesity, v. 25, p. 46–S50, 2001.
- AZEVEDO-MELEIRO, C. H.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. **Confirmation of the identity of the carotenoids of tropical fruits by HPLC-DAD and HPLC-MS.** Journal of Food Composition and Analysis, v.117, p. 385-396, 2004.
- BACKUS, R.; WARA, A. **Development of Obesity: Mechanisms and Physiology.** Vet Clin North Am Small Anim Pract, v. 46, n. 5, p. 773-784, 2016.
- BAHIA, L. *et al.* **The costs of overweight and obesity-related diseases in the Brazilian public health system: cross-sectional study.** BMC Public Health, v. 12, p. 440, 2012.
- BELLISSIMO, N.; AKHAVAN, T. **Effect of Macronutrient Composition on Short-Term Food Intake and Weight Loss.** Adv. Nutr. v. 6 p. 302S–308S, 2015.
- BERNARDIS, L. L.; PATTERSON, B. D. **Correlation between "Lee index" and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions.** J. Endocrinol, 1968; 40:527-528
- BEZERRA, N.; BARROS, T.; COELHO, N. **A ação do óleo de pequi (Caryocar brasiliense) no processo cicatricial de lesões cutâneas em ratos.** Rev Bras Plantas Med., v. 17, n. 4, p. 875-880, 2015.

BLUNDELL, J. et al. **Appetite control and energy balance: impact of exercise.** *Obes Rev.*, v. 16, n.1, p. 67-76, 2015.

BONET, M. L. et al. **Carotenoids in Adipose Tissue Biology and Obesity.** *Subcell Biochem*, v. 79, p. 377-414, 2016.

BONET, M. L. et al. A. **Carotenoids and their conversion products in the control of adipocyte function, adiposity and obesity.** *Arch Biochem Biophys.*, v. 15, n. 572, p. 112-125, 2015.

BOTTCHER, H.; FURST, P. **Decreased white fat cell thermogenesis in obese individuals.** *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 21, n. 6, p. 439-444, 1997.

BOUSTANY, C. M. et al. **Activation of the systemic and adipose renin-angiotensin system in rats with diet-induced obesity and hypertension.** *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, v. 287, n. 4, p. 943-949, 2004.

BRASIL. **Vigitel Brasil 2016: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico: estimativas sobre frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2016** Brasília: Ministério da Saúde 2017. Brazil. *Cancer Epidemiology*, v. 54, p. 63-70, 2018.

BROWN, J. D.; KARIMIAN AZARI, E.; AYALA J. E. **Oleylethanolamide: A fat ally in the fight against obesity.** *Physiol Behav*, v. 176, n. 1, p. 50-58, 2017.

BUETTNER, R. et al. **Defining high-fat-diet rat models: metabolic and molecular effects of different fat types.** *J Mol Endocrinol*, v. 36, n. 3, p. 485-501, 2006.

CAPUTO, T. et al. **From chronic overnutrition to metaflammation and insulin resistance: adipose tissue and liver contributions.** *FEBS Letters*, 2017.

CAREY, A. L.; FEBBRAIO M. A. **Interleukin-6 and insulin sensitivity: friend or foe.** *Diabetologia*, v. 47, n. 7, p. 1135-42, 2004.

CASTELL, J. V. et al. **Acute-phase response of human hepatocytes: Regulation of acute-phase protein synthesis by interleukin-6.** *Hepatology*, v. 12, n. 5, p. 1179-1186, 1990.

CAWTHORN, W. P.; SETHI, J. K. **TNF- $\alpha$  and adipocyte biology.** *FEBS Lett.* v. 9, n. 1, p. 117 – 131, 2008.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. **Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas.** *Química Nova*, v. 30, n. 2, p. 441, 2007.

CÉSAR, N. R. et al. **The Partial Replacement of Lard by Caryocar brasiliense Oil in a Western Diet improves Cardiovascular Risk Factors in Rats.** *F. Nutr. Reprt.*, v. 1, n. 4, p. 1-8. 2017.

CÉSAR, N. R. Efeitos da substituição parcial da banha de porco por óleo de pequi (caryocar brasiliense) em uma dieta ocidental sobre o metabolismo, a função cardíaca e o estado redox

celular de ratos. 2015.85 p. **Dissertação** (Mestrado) - Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2015.

CHEN, F. et al. **Interleukin-6 deficiency facilitates myocardial dysfunction during high fat diet-induced obesity by promoting lipotoxicity and inflammation**. BBA - Molecular Basis of Disease. v. 1863, p. 3128 – 3141, 2017.

CHYLIKOVA, J. et al. **M1/M2 macrophage polarization in human obese adipose tissue**. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. v. 162, n. 2, p. 79 – 82, 2018.

COLOMBO, N. et al. **Caryocar brasiliense camb protects against genomic and oxidative damage in Urethaneinduced lung carcinogenesis**. Braz J Med Biol Res, v. 48, n. 9, p. 852-862, 2015.

D’ORAZIO, N. et al. **Fucoxantin: A Treasure from the Sea**. Marine Drugs, v. 10, p. 604 – 616. 2012.

DE JONGE, L.; BRAY, G. A. **The thermic effect of food and obesity: a critical review**. Obes Res. v. 5, p. 622 - 631, 1997.

DE LA IGLESIA, R. et al. **Dietary Strategies Implicated in the Prevention and Treatment of Metabolic Syndrome**. Int. J. Mol. Sci., v. 1877, n. 11, p. 10-17, 2016.

DE OLIVEIRA, I. G. et al. **Plantas medicinais utilizadas na farmacopéia popular em Crato, Juazeiro e Barbalha-Ceará, Brasil**. Revista Brasileira de Biociências, v. 5, n. S1, p. pg. 189-191, 2007.

DELAIGLE, A. M. et al. **Induction of adiponectin in skeletal muscle by inflammatory cytokines: in vivo and in vitro studies**. Endocrinology, v. 145, p. 5589–5597, 2004.

Dinh, C. H. L. et al. **Bardoxolone methyl prevents fat deposition and inflammation in the visceral fat of mice fed a high-fat diet**. Chemico-Biological Interactions, v. 229, n. 5, p. 1-8, 2015.

ELIAS, C. F. et al. **Leptin differentially regulates NPY and POMC neurons projecting to the lateral hypothalamic area**. Neuron, v. 23, p.775-86, 1999.

ENOS, R. T.; VELÁZQUEZ, K. T.; MURPHY, E. A. **Insight into the impact of dietary saturated fat on tissue-specific cellular processes underlying obesity-related diseases**. O Jornal de Bioquímica Nutricional, v. 25, n. 6, p. 600-612, 2014.

FIELD, B. C. T. **Neuroendocrinology of obesity**. British Medical Bulletin, v. 109, n. 1, p. 73-82, 2014.

FIGUEIREDO, P. R. L. et al. **Caryocar coriaceum Wittm. (Pequi) fixed oil presents hypolipemic and anti-inflammatory effects in vivo and in vitro**. Journal of Ethnopharmacology, v. 191, p. 87-94, 2016.

- FLACHS, P. O. et al. **Stimulation of mitochondrial oxidative capacity in white fat independent of UCP1: a key to lean phenotype.** Biochim Biophys Acta, v. 1831, n. 5, p. 986–1003, 2013.
- FONSECA-ALANIZ M. H. et al. **Adipose tissue as an endocrine organ: From theory to practice.** J. Pediatr. 83 (Supl. 5), S192–S203, 2007.
- FRANCISCHI, R. P. P. et al. **Obesity: updated information about its etiology, morbidity and treatment.** Rev. Nutr. Campinas, v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.
- FRENCH, S. J. et al. **The effects of intestinal infusion of long-chain fatty acids on food intake in humans.** Gastroenterology, v. 119, p. 943-948, 2000.
- FRIEDMAN, M. I. **Fuel partitioning and food intake.** Am. J. Clin. Nutr., v. 67, n. 3, p. 513S–518S, 1998.
- FU, J. et al. **Oleylethanolamide, an endogenous PPAR-alpha agonist, lowers body weight and hyperlipidemia in obese rats.** Neuropharmacology, v. 48, p. 1147-1153, 2005.
- FU, J. et al. **Targeted enhancement of oleylethanolamide production in proximal small intestine induces across-meal satiety in rats.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, v. 295, p. 45 – 50, 2008.
- FUENTES, E. et al. **Mechanisms of chronic state of inflammation as mediators that link obese adipose tissue and metabolic syndrome.** Mediators of inflammation, 2013.
- GALI, A. **A High Fat Diet Leads to Overeating Because of Faulty Brain Signaling.** Heliyon. 2015.
- GAMMONE, M. A. **Marine Bioactives and Potential Application in Sports.** Marine Drugs, v. 12, p. 2357 – 2382, 2014.
- GHOSH G. et al. **NF- $\kappa$ B regulation: lessons from structures.** Immunological Reviews, v. 246, p. 36–58, 2012.
- GILLINGHAM, L. G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P. J. **Dietary monounsaturated fatty acids are protective against metabolic syndrome and cardiovascular disease risk factors.** Lipids, v. 46, n. 3, p. 209-228, 2011.
- HARVEY, G. A.; MOORE, S. E. **Dietary proteins in the regulation of food intake and body weight in humans.** J. Nutri, v. 134, n. 4, p. 9745-9795, 2004.
- HERMSDORFF, H. H. M. et al. **Macronutrient profile affects diet-induced thermogenesis and energy intake.** Archivos Latinoamericanos de Nutrición, v. 57, n. 1, p. 33-42, 2007.
- HILL, J. O.; MELANSON, E. L.; WYATT, H. T. **Consumo de gorduras na dieta e regulação do balanço energético: implicações para a obesidade.** J Nutr., v. 130, p. 284-288, 2000.
- HO, K. K. Y. **Diet-induced thermogenesis: fake friend or foe?.** J. Endocrinol. v. 238, n. 3, p. 185 - 191. 2018.

HOPKINS, M. E BLUNDELL, J. E. **Energy balance, body composition, sedentariness and appetite regulation: pathways to obesity.** Clinical Science, v. 130, n. 18, p.1615-1628, 2016.

HOSOKAWA, M. et al. **Fucoxanthin regulates adipocytokine mRNA expression in white adipose tissue of diabetic/obese KK-Ay mice.** Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 504, p. 17-25, 2010.

HU, S. et al. **Dietary Fat, but Not Protein or Carbohydrate, Regulates Energy Intake and Causes.** Adiposity in Mice, 2018.

JIN, Q.; Yu, H. e Li, P. **The Evaluation and Utilization of Marine-derived Bioactive Compounds with Anti-obesity Effect.** Curr Med Chem. v. 25 n. 7, p. 861-878, 2018.

JONES, P. J. et al. **Modulation of plasma N-acyl ethanolamine levels and physiological parameters by dietary fatty acid composition in humans.** J Lipid Res., v. 55, n. 12, p. 2655-2664, 2014.

JUNG, M.-J. et al. **Chronic Repression of mTOR Complex 2 Induces Changes in the Gut Microbiota of Diet-induced Obese Mice.** Scientific Reports, v. 6, p. 30887, 2016.

KANDA, H. et al. **MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity.** Journal of Clinical Investigation, v. 116, n. 6, p. 1494-1505, 2006.

KIEN, C.L.; BUNN, J.Y.; UGRASBUL, F. **Increasing dietary palmitic acid decreases fat oxidation and daily energy expenditure.** Am J Clin Nutr., v. 82, p. 320-326, 2006.

KLESS, C. et al. **Proximate causes for diet-induced obesity in laboratory mice: a case study.** European Journal of Clinical Nutrition, v.71, p. 306–317, 2017.

KRISHNAN, S. E COOPER, J.A. **Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans.** Eur J Nutr, v. 53 n. 3 p. 691-710, 2014.

KUSMINSKI, C. M.; SCHERER, P. E. **Mitochondrial dysfunction in white adipose tissue.** Trends Endocrinol Metab, v. 23, n. 9, p. 435-443, 2012.

LALEH, P.; YASER K.; ALIREZA O. **Oleoyl ethanolamide: A novel pharmaceutical agent in the management of obesity-an updated review.** Epub. V. 234, n. 6, p. 7893-7902, 2019.

LASTRA, G. et al. **The Role of  $\beta$ - Cell Dysfunction in the Cardiometabolic Syndrome.** Journal of the cardiometabolic syndrome, v. 1, n. 1, p. 41-46, 2006.

LEJEUNE, M. P. et al. **Ghrelin and glucagon-like peptide 1 concentrations, 24-h satiety, and energy and substrate metabolism during a high-protein diet and measured in a respiration chamber.** Am. J. Clin. Nutr., v. 83, p. 89-94, 2006.

LI M. et al. **Leptin and beyond: An odyssey to the central control of body Weight.** Yale Journal of Biology and Medicine. 84:1-7, 2011.



LIMA, A. et al. **Composição química e compostos bioativos presentes na polpa e na amêndoa do pequi (*Caryocar brasiliense*, Camb.)**. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 29, n. 3, p. 695-698, 2007.

LOFFREDA, S.; YANG, S. Q.; LIN, H. Z. **Leptin regulates proinflammatory immune responses**. The FASEB Journal. 12(1):57–65, 1998.

LOPEZ-HUERTAS, E. **Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies**. Pharmacological Research, v. 61, n. 3, p. 200-207, 2010.

LOUER, R. et al. **Diet-Induced Obesity Significantly Increases the Severity of Post-Traumatic Arthritis in Mice** Craig. Arthritis Rheum, v. 64, n. 10, p. 3220–3230, 2012.

MAIANI, G. et al. **Carotenoids: actual knowledge on food sources, intakes, stability and bioavailability and their protective role in humans**. Molecular nutrition e foodresearch, Weinheim, v. 53, n. 2, p. 194-218, 2009.

MAKKI, K.; FROGUEL, P.; WOLOWCZUK, I. **Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines**. ISRN Inflamm. p. 1-12, 2013.

Matsuo, T.; Suzuki, M. **Beef Tallow Diet Decreases Lipoprotein Lipase Activities in Brown Adipose Tissue, Heart, and Soleus Muscle by Reducing Sympathetic Activities in Rats**. Journal of Nutritional Science and Vitaminology, v. 40, n. 6, p. 569-581, 1994.

MENNELLA, I. et al. **Oleic acid content of a meal promotes oleoylethanolamide response and reduces subsequent energy intake in humans**. Food Funct.v. 6, n. 1, p. 204–210, 2015.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. **Dextran functionalized magnetic fluid mediating magnetohyperthermia combined with preventive antioxidant pequi oil supplementation: potential use against cancer**. J Biomed Nanotechnol, v. 9, n. 7, p. 1261-1271, 2013.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. **Genetic polymorphisms influence runners' responses to the dietary ingestion of antioxidant supplementation based on pequi oil (*Caryocar brasiliense* Camb.): a beforeafter study**. Genes Nutr, v. 6, n. 4, p. 369-395, 2011.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. **Oil rich in carotenoids instead of vitamins C and E as a better option to reduce doxorubicininduced damage to normal cells of Ehrlich tumorbearing mice: hematological, toxicological and histopathological evaluations**. J Nutr Biochem, v. 25, n. 11, p. 1161-1176, 2014.

MIRANDA-VILELA, A. L. et al. **Pequi fruit (*Caryocar brasiliense* Camb.) pulp oil reduces exerciseinduced inflammatory markers and blood pressure of male and female runners**. Nut Res., v. 29, n.12, p. 850-858, 2009.

MITROU, P. et al. **Skeletal Muscle Insulin Resistance in Morbid Obesity: The Role of Interleukin-6 and Leptin**. Exp Clin Endocrinol Diabetes. v. 119, p. 484 – 489, 2011.

MONDAL, A. K. et al., **Effect of 667 endoplasmic reticulum stress on inflammation and adiponectin regulation in 668 human adipocytes**, *Metab. Syndr. Relat. Disord.* v. 10, n. 4, p. 297–306, 2012.

MONTEIRO, C. A.; Conde, W. L. **A tendência secular da obesidade segundo estratos sociais: nordeste e sudeste do Brasil, 1975-1989-1997**. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia*, v. 43, n. 3, p. 186-94, 1999.

MORENO, L. G. et al. **Caryocar brasiliense fruit intake ameliorates hepatic fat deposition and improves intestinal structure of rats**. *Journal of Medicinal Plant Research*, v. 10, n.37, p. 640-648, 2016.

MORINO, K.; PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. **Molecular Mechanisms of Insulin Resistance in Humans and Their Potential Links With Mitochondrial Dysfunction**. *Diabetes*. v. 55, n. 2, p. 1-12, 2006.

NILSSON, A. C. et al. **Including indigestible carbohydrates in the evening meal of healthy subjects improves glucose tolerance, lowers inflammatory markers, and increases satiety after a subsequent standardized breakfast**. *J Nutr*, v. 138, p. 732-739, 2008.

NIMPTSCH, K.; BERG-BECKHOFF, G.; LINSEISEN, J. **Effect of dietary fatty acid intake on prospective weight change in the Heidelberg cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition**. *Public Health Nutr*, v. 13, n. 10, p. 1636-1646, 2010.

O'ROURKE, R. W. et al. **Depot-specific differences in inflammatory mediators and a role for NK cells and IFN- $\gamma$  in inflammation in human adipose tissue RW**. *International Journal of Obesity*, v. 33, p. 978–990, 2009.

OH, D. Y. et al. **Increased Macrophage Migration Into Adipose Tissue in Obese Mice**. *Diabetes*, v. 61, n. 2, p. 346-354, 2012.

OHASHI, K. et al. **Adiponectin promotes macrophage polarization toward an anti-inflammatory phenotype**. *Journal of Biological Chemistry*, v. 285, n. 9, p. 6153-6160, 2010.

OKAMOTO, M. et al. **Adiponectin induces insulin secretion in vitro and in vivo at a low glucose concentration**. *Diabetologia*, v. 51, n. 5, p. 827-835, 2008.

OLIVEIRA, L. G. et al. **Caryocar brasiliense oil improves cardiac function by increasing Serca2a/PLB ratio despite no significant changes in cardiovascular risk factors in rats**. *Lipids in Health and Disease*, v. 16, n. 37, p. 1-8, 2017.

OLIVEIRA, L. M. D.; et al. **Endothelium-dependent vasorelaxant effect of butanolic fraction from Caryocar brasiliense Camb. leaves in rat thoracic aorta**. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v. 2012, 2012.

PALMEIRA, S. M. et al. **Chemopreventive effects of pequi oil (Caryocar brasiliense Camb.) on preneoplastic lesions in a mouse model of hepatocarcinogenesis**. *Eur J Cancer Prev*, v. 25, n. 4, p. 299-305, 2015.

PANT, C.; STARACET, A. F.; GREENEF, C.H. **Parallels between high doubly excited state spectra in H- and Li- photodetachment**. *Journal of Physics B: At. Mol.*, v.27, p.137-142, 1994.

PEREIRA, J. L. et al. **Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica.** *Ciência & Saúde*, v. 11, n. 1, p. 51-57, 2018.

PINEIRO, R. et al. **Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes.** *FEBS Lett.* v. 579, p. 5163–5169, 2005.

POUDYAL, H.; BROWN, L. **Should the pharmacological actions of dietary fatty acids in cardiometabolic disorders be classified based on biological or chemical function?** *Prog Lipid Res.*, v. 59, p. 172-200, 2015.

POZO, O. V. C. O pequi (*Caryocar brasiliense*): uma alternativa para o desenvolvimento sustentável do cerrado no norte de Minas Gerais. **Dissertação** (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, p. 100, 1997.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. **AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet.** American Institute of Nutrition. 1993.

REZENDE, L. F. M. D. et al. **The increasing burden of cancer attributable to high body mass index in Brazil.** *Cancer Epidemiology*, v. 54, p. 63-70, 2018.

RIBOT, J. et al. **Changes of adiposity in response to vitamin A status correlate with changes of PPAR $\gamma$ 2 expression.** *Obesity Research*, [online], v. 9, n. 8, p. 500-509, 2001.

RIDKER, P. M. **Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention.** *Circulation*, v. 107, n. 3, p. 363-369, 2003.

ROCHA, D. M.; BRESSAN, J. E HERMSDORFF, H. H. **The role of dietary fatty acid intake in inflammatory gene expression: a critical review.** *Sao Paulo Med J.* v. 135, n. 2, p. 157-682017, 2017.

ROESLER, R.; LORENCINI, M.; PASTORE, G. **Brazilian cerrado antioxidant sources: cytotoxicity and phototoxicity in vitro.** *Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 30, n. 3, p. 814-821, 2010.

ROH, E.; KIM, M. S. **Brain regulation of energy metabolism.** *Endocrinol Metab*, v. 31, p. 519-524, 2016.

ROLL, M. M. et al. **The pequi pulp oil (*Caryocar brasiliense* Camb.) provides protection against aging-related anemia, inflammation and oxidative stress in Swiss mice, especially in females.** *Genetics and Molecular Biology*. v. 41, n. 4, p. 858-869, 2018.

ROSINI, T. C.; SILVA, A. S. R; MORAIS, C. S. M. **Obesidade induzida por consumo de dieta: modelo em roedores para o estudo dos distúrbios relacionados com a obesidade.** *Rev Assoc Med Bras*, v. 58, n. 3, p. 383-387, 2012.

RUBIO-PEREZ, MIGUEL J.; MORILLAS-RUIZ J. M. A Review: **Inflammatory Process in Alzheimer's Disease, Role of Cytokines.** *The Scientific World Journal*, v. 15, 2012.

SAKAMOTO, T. et al. **Dietary factors evoke thermogenesis in adipose tissues.** Obesity Research & Clinical Practice, v. 8, p. 533-539, 2014.

SALMON, D. M.; FLATT, J. P. **Efeito do teor de gordura na dieta sobre a incidência de obesidade entre camundongos ad libitum.** Revista Internacional de Obesidade, v. 9, n. 6, p. 443-449, 1985.

SCHARRER, E.; LANGHANS, W. **Control of food intake by fatty acid oxidation.** Am. J. Physiol. v.250, n. 6, p. 1003–1006, 1986.

SCHUTZ, Y. **Macronutrient and energy balance in obesity.** Metabolism, v. 44, n.3, p. 7-11, 1995.

SIHAG, J.; JONES, P. J. H. **Oleoyl ethanolamide: the role of a bioactive lipid amide in modulating eating behaviour.** Obesity Reviews, v.19, p.178-197, 2018.

SKURK T, et al. **Relationship between adipocyte size and adipokine expression and secretion.** J Clin Endocrinol Metab, v. 92, n. 3, p. 1023-33, 2007.

STEPHEN, C. W. **Metabolic signals and food intake. Forty years of progress.** Appetite, v. 71, p. 440-444, 2013.

STEPHENS, J. M.; LEE, J.; PILCH, P. F. **Tumor necrosis factor- $\alpha$ -induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction.** J Biol Chem, v. 272, p. 971–976, 1997.

STRISSEL, K. J. et al. **Greenberg, A. S.; Obin, M. S.. T-cell recruitment and Th1 polarization in adipose tissue during diet-induced obesity in C57BL/6 mice.** Obesity (Silver Spring) v. 18, p. 1918–1925, 2010.

SUGANAMI, T.; OGAWA, Y. **Adipose tissue macrophages: their role in adipose tissue remodeling.** Journal of leukocyte biology, v. 88, n. 1, p. 33-39, 2010.

SUN, K. et al. **Fibrosis and adipose tissue dysfunction.** Cell metabolism, v. 18, n. 4, p. 470-477, 2013.

SUN, K.; KUSMINSKI, K. M.; SCHERER, P. E. **Adipose tissue remodeling and obesity.** The Journal of Clinical Investigation. v.121, p. 2094-2101, 2011.

TAK P. P.; FIRESTEIN G. S. **NF- $\kappa$ B: a key role in inflammatory diseases.** J Clin Invest. 2001 v. 107, n. 1, p. 7-11, 2001.

TAKEUCHI, J. et al. **The SMS1 gene encoding a serine-rich transmembrane protein suppresses the temperature sensitivity of the htr1 disruptant in *Saccharomyces cerevisiae*.** Biochim Biophys Acta, v. 1260, n.1, p. 94-96, 1995.

TEIXEIRA, T. N. et al. **Caryocar brasiliense pulp increases serum HDL and reduces hepatic lipid accumulation in rats fed a high fat diet.** Journal of Medicinal Plants Research, v. 7, n. 15, p. 963-969, 2013.

- TENTOLOURIS, N. et al. **Diet-induced thermogenesis and substrate oxidation are not different between lean and obese women after two different isocaloric meals, one rich in protein and one rich in fat.** *Metabolism: Clinical and Experimental*, v. 57, p. 313-320, 2008.
- TORRES, L. R. et al. **Pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) almond oil attenuates carbon tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats: antioxidant and anti-inflammatory effects.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 97, p. 205-216, 2016.
- TORRES, L. R. O. et al. **Bioactive compounds and functional potential of pequi (*Caryocar* spp.), a native Brazilian fruit: a review.** *Grasas Aceites*, v. 69, n. 2, 2018.
- TRAESEL, G. K. et al. **Evaluation of embryotoxic and teratogenic effects of the oil extracted from *Caryocar brasiliense* Cambess pulp in rats.** *Food and Chemical Toxicology*, v. 110, p. 74 – 82, 2017.
- TRAYHURN, P. **Hypoxia and adipocyte physiology: implications for adipose tissue dysfunction in obesity.** *Annual review of nutrition*, v. 34, p. 207-236, 2014.
- VALE, A. F. et al. **Antioxidant effect of the pequi oil (*Caryocar brasiliense*) on the hepatic tissue of rats trained by exhaustive swimming exercises.** *Brazilian Journal of Biology*, 2018.
- VALERIO, A. et al. **TNF-alpha downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents.** *J Clin Invest*, v.116, n. 10, p. 2791–2798, 2006.
- WANG, P. Y. et al. **Upper intestinal lipids trigger a gut-brain-liveraxis to regulate glucose production.** *Nature*, v. 24, n. 452, p. 1012-1016, 2008.
- WESTERTERP, K. R. **Diet induced thermogenesis.** *Nutrition and Metabolism*, v. 1186, n. 10, p. 1-5, 2004.
- WESTERTERP, K. R.; WILSON, S. A.; ROLLAND, V. **Diet induced thermogenesis measured over 24 h in a respiration chamber: effect of diet composition.** *Int J Obes Relat Metab Disord*, v. 23, n. 3, p. 287-292, 1999.
- WESTERTERP-PLANTENGA, M. S. **Protein intake and energy balance.** *Regulatory Peptides*, v. 149, p. 67-69, 2008.
- WHITE, S. et al. **Modelo de obesidade induzida por dieta hiperlipídica e associada à resistência à ação da insulina e intolerância a glicose.** *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 57, n. 5, p. 339-45, 2013.
- WHO. **Global strategy on diet, physical activity and health.** Obesity and overweight, 2016.
- WOLF, A. M. et al. **Up-regulation of the antiinflammatory adipokine adiponectin in acute liver failure in mice.** *J. Hepatol*, v. 44, p. 537–543, 2006.
- WOLF, A. M. et al. **Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes.** *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 323, 630–635, 2004.
- WOODS, S. C. et al. **A controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats.** *The Journal of nutrition*, v. 133, n. 4, p. 1081-1087, 2003.

WU, H. et al. **CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity**. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, v. 30, n. 2, p. 186-192, 2010.

WYCHERLEY, T.P. et al. **Effects of energy-restricted high-protein, low-fat compared with standard protein, low-fat diets: a meta-analysis of randomized controlled trials**. Am J Clin Nutr., v. 96, p. 1281-1298, 2012.

YAMAGUCHI, N. et al. **Adiponectin inhibits Toll-like receptor family-induced signaling**. FEBS Lett. v. 579, p. 6821–6826, 2005.

YOKOTA, T. et al. **Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages**. Blood, v. 96, p. 1723–1732, 2000.

ZASLAV, K. R. **An International Perspective on Topics in Sports Medicine and Sports Injury**. IntechOpen, 2012. Disponível em: <<https://www.intechopen.com/books/an-international-perspective-on-topics-in-sports-medicine-and-sports-injury>>. Acesso em: 20 out. 2018.